

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-508885

(P2008-508885A)

(43) 公表日 平成20年3月27日(2008.3.27)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>C 12 N 15/09</b> (2006.01)	C 12 N 15/00	Z N A A 4 B 0 2 4
<b>C 12 N 1/15</b> (2006.01)	C 12 N 1/15	4 B 0 6 4
<b>C 12 N 1/19</b> (2006.01)	C 12 N 1/19	4 B 0 6 5
<b>C 12 N 1/21</b> (2006.01)	C 12 N 1/21	4 C 0 8 5
<b>C 12 N 5/10</b> (2006.01)	C 12 N 5/00	A 4 H 0 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 87 頁) 最終頁に続く

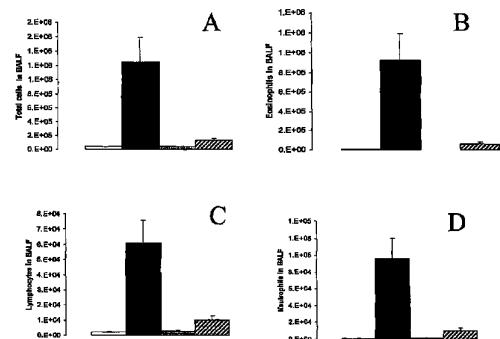
(21) 出願番号	特願2007-525033 (P2007-525033)	(71) 出願人	591011502 ワイス W y e t h アメリカ合衆国 O 7 9 4 0 - 0 8 7 4 ニュ ージャージー州 マディソン、ファイブ・ ジラルダ・ファームズ
(86) (22) 出願日	平成17年8月5日 (2005.8.5)	(74) 代理人	100092783 弁理士 小林 浩
(85) 翻訳文提出日	平成19年4月5日 (2007.4.5)	(74) 代理人	100095360 弁理士 片山 英二
(86) 國際出願番号	PCT/US2005/027912	(74) 代理人	100120134 弁理士 大森 規雄
(87) 國際公開番号	W02006/135385	(74) 代理人	100104282 弁理士 鈴木 康仁
(87) 國際公開日	平成18年12月21日 (2006.12.21)		
(31) 優先権主張番号	60/599,086		
(32) 優先日	平成16年8月5日 (2004.8.5)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	60/639,176		
(32) 優先日	平成16年12月23日 (2004.12.23)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インターロイキン-21受容体活性を中和すること

## (57) 【要約】

インターロイキン-21 (IL-21) / IL-21 受容体 (MU-1) 活性を、IL-21 または IL-21 受容体 (「IL-21R」または「MU-1」) のアンタゴニストを使用して阻害するための方法および組成物が開示される。IL-21 / IL-21R アンタゴニストを、例えば、自己免疫障害または炎症性障害 (これらには、例えば、炎症性腸疾患 (IBD)、関節リウマチ (RA)、移植 / 移植片拒絶、乾癬、喘息、線維化および全身性エリテマトーデス (SLE) が含まれる) を処置、改善または防止するためにインビボで免疫抑制を誘導するように使用することができる。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

哺乳動物対象における自己免疫障害または炎症性障害を処置、改善または防止する方法であって、抗 IL-21R 抗体、抗 IL-21 抗体、抗 IL-21R 抗体の抗原結合性フラグメント、抗 IL-21 抗体の抗原結合性フラグメント、および、IL-21R の可溶性フラグメントからなる群より選択される IL-21 / IL-21R アンタゴニストを、障害を処置、改善または防止するために十分な量で対象に投与することを含む方法。

## 【請求項 2】

10 関節炎障害、アトピー性障害、呼吸器障害、皮膚炎症性障害、腸炎症性障害、線維化障害、全身性エリテマトーデス、移植 / 移植片拒絶、および、移植 / 移植片拒絶に関連する障害からなる群より選択される障害を哺乳動物対象において処置、改善または防止する方法であって、抗 IL-21R 抗体、抗 IL-21 抗体、抗 IL-21R 抗体の抗原結合性フラグメント、抗 IL-21 抗体の抗原結合性フラグメント、および、IL-21R の可溶性フラグメントからなる群より選択される IL-21 / IL-21R アンタゴニストを、障害を処置、改善または防止するために十分な量で対象に投与することを含む方法。

## 【請求項 3】

抗 IL-21R 抗体が、配列番号 2 に示される配列に対して少なくとも 90 % 同一性であるアミノ酸配列から構成される IL-21R に結合することができ、かつ、IL-21R が IL-21 と結合することができる、請求項 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

20 関節炎障害が、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎および強直性脊椎炎からなる群より選択される、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 5】

関節炎障害が関節リウマチである、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 6】

呼吸器障害が喘息または慢性閉塞性肺疾患である、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 7】

線維化障害が、体内器官の纖維化、皮膚の纖維化性障害、眼の纖維化状態、全身性硬化症、多発性筋炎、皮膚筋炎、好酸球性筋膜炎、レイノー症候群、糸球体腎炎および鼻ポリポーシスからなる群より選択される、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 8】

30 腸炎症性障害が、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎およびクローン病からなる群より選択される、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 9】

皮膚炎症性障害が乾癬である、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 10】

アトピー性障害が、アレルギー性喘息、アトピー性皮膚炎、じんま疹、湿疹、アレルギー性鼻炎およびアレルギー性胃腸炎からなる群より選択される、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 11】

アトピー性障害がアレルギー性喘息である、請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 12】

40 移植 / 移植片拒絶に関連する障害が移植片対宿主病である、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 13】

障害が移植 / 移植片拒絶である、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 14】

障害が全身性エリテマトーデスである、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 15】

哺乳動物対象がヒトである、請求項 2 に記載の方法。

## 【請求項 16】

IL-21R の可溶性フラグメントが IL-21R の細胞外ドメインおよび Fc 免疫グ

10

20

30

40

50

ロブリンフラグメントから構成される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 17】

IL-21R の細胞外ドメインが配列番号 2 のおよそアミノ酸 1 ~ 235 を含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

IL-21R の可溶性フラグメントが、配列番号 29 に示される配列に対して少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列から構成される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 19】

IL-21 / IL-21R アンタゴニストが抗 IL-21R 抗体またはその抗原結合性フラグメントである、請求項 2 に記載の方法。

10

【請求項 20】

IL-21 / IL-21R アンタゴニストが抗 IL-21 抗体またはその抗原結合性フラグメントである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 21】

IL-21R の細胞外ドメイン（この場合、IL-21R は、配列番号 2 に示される配列に対して少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列を有する）と、Fc 免疫グロブリンフラグメントとから構成され、かつ、IL-21 と結合することができる融合タンパク質。

【請求項 22】

配列番号 29 に示される配列に対して少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列から構成される、請求項 21 に記載の融合タンパク質。

20

【請求項 23】

請求項 21 に記載される融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列を有するベクター。

【請求項 24】

請求項 23 に記載されるベクターを含む組換え宿主細胞。

【請求項 25】

(a) 請求項 24 に記載される組換え宿主細胞を、融合タンパク質が発現されるような条件のもとで培養すること；および

(b) 融合タンパク質を回収すること

30

を含む、融合タンパク質の製造方法。

【請求項 26】

IL-21 / IL-21R アンタゴニストおよび医薬的に許容され得るキャリアを含む医薬組成物。

【請求項 27】

IL-21 / IL-21R アンタゴニストが、抗 IL-21R 抗体、抗 IL-21 抗体、抗 IL-21R 抗体の抗原結合性フラグメント、抗 IL-21 抗体の抗原結合性フラグメント、および、IL-21R の可溶性フラグメントからなる群より選択される、請求項 26 に記載の医薬組成物。

【請求項 28】

IL-21R の可溶性フラグメントが、IL-21R の細胞外ドメインと、Fc 免疫グロブリンフラグメントとから構成される、請求項 27 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 29】

臓器、組織、細胞または細胞群を哺乳動物対象に移植 / グラフト化する方法であって、(a) 抗 IL-21R 抗体、抗 IL-21 抗体、抗 IL-21R 抗体の抗原結合性フラグメント、抗 IL-21 抗体の抗原結合性フラグメント、および、IL-21R の可溶性フラグメントからなる群より選択される IL-21 / IL-21R アンタゴニストを、移植 / 移植片拒絶の危険性を低下させるために十分な量で対象に投与する工程；および

(b) 臓器、組織、細胞または細胞群を対象に移植 / グラフト化する工程

を含み、移植 / グラフト化工程 (b) が投与工程 (a) の前または期間中または後のいず

50

れかで行われる、方法。

【請求項 3 0】

移植 / グラフト化された臓器、組織、細胞または細胞群が、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、骨髓、軟骨、角膜、ニューロン組織、および、それらの細胞からなる群より選択される、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

哺乳動物の移植 / 移植片レシピエントにおける移植 / 移植片拒絶を処置、防止または改善する方法であって、

( a ) 移植 / 移植片レシピエントにおける移植 / 移植片拒絶の症状を検出すること；および

( b ) 抗 IL - 2 1 R 抗体、抗 IL - 2 1 抗体、抗 IL - 2 1 R 抗体の抗原結合性フラグメント、抗 IL - 2 1 抗体の抗原結合性フラグメント、および、IL - 2 1 R の可溶性フラグメントからなる群より選択される IL - 2 1 / IL - 2 1 R アンタゴニストを移植 / 移植片レシピエントに投与すること

を含む方法。

【請求項 3 2】

移植 / 移植片拒絶の症状が、炎症、低下した臓器機能、生検における拒絶の徵候、および、纖維化からなる群より選択される、請求項 3 1 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本出願は、米国仮特許出願第 6 0 / 5 9 9 , 0 8 6 号（2 0 0 4 年 8 月 5 日出願）および米国仮特許出願第 6 0 / 6 3 9 , 1 7 6 号（2 0 0 4 年 1 2 月 2 3 日出願）の利益を主張する（これらはともに、その全体が参照して本明細書中に組み込まれる）。

【0 0 0 2】

本発明は、インターロイキン - 2 1 (IL - 2 1) / IL - 2 1 受容体 (M U - 1) 活性を、IL - 2 1 受容体アンタゴニストを使用して中和し、低下させ、かつ / または阻害するための方法および組成物に関連する。本明細書中に開示される方法および組成物は免疫治療剤として有用である。

【背景技術】

【0 0 0 3】

ヒト IL - 2 1 は、IL - 2 、IL - 4 および IL - 1 5 に対する配列相同性を示すサイトカインである (Parrish-Novak et al. (2000)、Nature、408:57-63)。インターロイキンサイトカイン間の低い配列相同性にもかかわらず、様々なサイトカインがともに共通して、このファミリーに代表的な「4 ヘリックスバンドル (four-helix-bundle)」構造に折り畳まれる。ほとんどのサイトカインがクラス I またはクラス II のいずれかのサイトカイン受容体と結合する。クラス II のサイトカイン受容体には、IL - 1 0 およびインターフェロンに対する受容体が含まれ、これに対して、クラス I のサイトカイン受容体には、IL - 2 ~ IL - 7 、IL - 9 、IL - 1 1 、IL - 1 2 、IL - 1 3 および IL - 1 5 、ならびに、造血系増殖因子、レプチニンおよび成長ホルモンに対する受容体が含まれる (Cosman(1993)、Cytokine、5:95-106)。

【0 0 0 4】

ヒト IL - 2 1 受容体 (IL - 2 1 R) は、リンパ系組織において、特に、NK 細胞、B 細胞および T 細胞によって発現されるクラス I のサイトカイン受容体である (Parrish-Novak et al. (2000)、supra)。ヒトインターロイキン - 2 1 (IL - 2 1) およびその受容体 (IL - 2 1 R) をコードするヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が、国際特許出願公開 WO 0 0 / 5 3 7 6 1 ；国際特許出願公開 WO 0 1 / 8 5 7 9 2 ；Parrish-Novak et al. (2000)、supra；及び Ozaki et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 、97:11439-44 に記載されている。IL - 2 1 R は IL - 2 受容体の 鎖および IL - 4 受容体の 鎖に対して最大の配列相同性を有する (Ozaki et al. (2000)、supra)。リガ

10

20

30

40

50

ドと結合したとき、IL-21Rは、IL-2、IL-3、IL-4、IL-7、IL-9、IL-13およびIL-15に対する受容体がともに有する共通したガンマサイトカイン受容体鎖(c)と会合する(Ozaki et al. (2000)、supra; Asao et al. (2001)、J. Immunol.、167:1-5)。IL-21Rの広範囲にわたるリンパ系分布は、IL-21が免疫調節において一定の役割を果たしているかもしれないことを示唆する。実際、インビトロ研究では、IL-21が、B細胞、CD4<sup>+</sup>ならびにCD8<sup>+</sup>のT細胞、およびNK細胞の機能を顕著に調節することが示されている(Parrish-Novak et al. (2000)、supra; Kasaian et al. (2002)、Immunity、16:559-69)。それにもかかわらず、インビトロのIL-21の調節作用を裏付ける証拠は限られている。

## 【発明の開示】

10

## 【0005】

インターロイキン-21(IL-21)およびIL-21受容体(これはまた、本明細書中では「IL-21R」または「MU-1」として示される)の活性、および/または、それらとの間での相互作用を、例えば、IL-21またはIL-21Rのアンタゴニスト(これはまた、本明細書中では「IL-21/IL-21Rアンタゴニスト」または「アンタゴニスト」または「IL-21/IL-21R経路アンタゴニスト」として示される)を使用して妨害するための方法および組成物が開示される。

## 【0006】

例えば、本出願人は、IL-21アンタゴニスト(例えば、Fc免疫グロブリン領域に融合されたIL-21R細胞外ドメインを含む融合タンパク質)を使用することによってIL-21R活性を低下させることにより、炎症症状が、炎症性障害および/または自己免疫障害(例えば、炎症性腸疾患(IBD)、関節リウマチ(RA)、移植/移植片拒絶、移植片対宿主病、喘息、全身性エリテマトーデス(SLE)(糸球体腎炎の形態を含む)および乾癬など)を無理なく予測するいくつかの異なる動物モデルにおいて改善されることを示している(実施例7~14)。IL-21RのmRNAの発現がコラーゲン誘導関節炎(CIA)マウスの足においてアップレギュレーションされている(実施例8)。さらに、IL-21R欠損マウスは症状の軽減を喘息モデルにおいて示した(実施例12)。従って、IL-21/IL-21R活性のアンタゴニストを、例えば、炎症性障害または自己免疫障害を処置または防止するためにインビトロで免疫抑制を誘導するように使用することができる。このようなアンタゴニストはまた、免疫細胞に関連した障害(例えば、成熟T細胞(例えば、成熟CD8<sup>+</sup>T細胞または成熟CD4<sup>+</sup>T細胞)、成熟NK細胞、B細胞、マクロファージおよび巨核芽球の1つまたは複数の異常な活性に関連する障害)を処置または防止するために使用することができる。

20

## 【0007】

従って、1つの態様において、本発明は、対象における炎症性障害または自己免疫障害を処置し(例えば、治療し、抑制し、遅延させ)、改善し(例えば、軽減し、緩和し、減少させ、低下させ)、および/または、防止する(例えば、その発症を防止するか、あるいは、その反復または再発を防止する)方法を特徴とする。この方法は、IL-21/IL-21Rアンタゴニストを、例えば、障害を処置、改善または防止するために十分な量で、あるいは、免疫細胞の活性および/または細胞数を阻害または低下させるために十分な量で対象に投与することを含む。

30

## 【0008】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、単独で、または、IL-21/IL-21Rアンタゴニストの組合せで、または、本明細書中に記載されるような他の治療療法との組合せで対象に投与することができる。好ましくは、対象は、炎症性障害または自己免疫障害に罹患しているか、あるいは、炎症性障害または自己免疫障害の危険性がある哺乳動物(例えば、ヒト)である。例えば、本発明の方法は、炎症性障害または自己免疫障害を対象において処置または防止するために使用することができる。そのような障害の例には、移植/移植片拒絶;糖尿病(例えば、I型);多発性硬化症;関節炎障害(例えば、関節リウマチ(RA)、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎および強直性

40

50

脊椎炎（好ましくは、R A）；重症筋無力症；脈管炎；全身性エリテマトーデス（S L E）；糸球体腎炎；自己免疫甲状腺炎；皮膚の炎症性障害（例えば、皮膚炎（アトピー性皮膚炎および湿疹性皮膚炎を含む）、強皮症または乾癬）；エリテマトーデス；線維症または線維化障害（例えば、肺線維症または肝臓線維症）；呼吸器障害（例えば、喘息またはC O P D）；アトピー性障害（例えば、アレルギーを含む）；または腸の炎症性障害（例えば、I B D、例えば、クローン病または潰瘍性大腸炎）が含まれるが、これらに限定されない。

【0009】

エリテマトーデス、皮膚の炎症性障害（例えば、乾癬）、腸の炎症性障害（例えば、I B D、クローン病、潰瘍性大腸炎）、移植／移植片拒絶、喘息、アトピー性障害または関節リウマチから選ばれる障害を、本発明のI L - 2 1 / I L - 2 1 Rアンタゴニストを使用して処置することが好ましい。

10

【0010】

1つの実施形態において、I L - 2 1 / I L - 2 1 Rアンタゴニストは、例えば、I L - 2 1 またはI L - 2 1 R（好ましくは、哺乳動物（例えば、ヒト）のI L - 2 1 またはI L - 2 1 R）（本明細書中では「I L - 2 1 アンタゴニスト」および「I R - 2 1 Rアンタゴニスト」としてそれぞれ示される）と相互作用し、かつ、1つまたは複数のI L - 2 1 活性および／またはI L - 2 1 R活性を低下または阻害する。好ましいアンタゴニストは、高い親和性で、例えば、少なくとも約 $10^7 M^{-1}$ （好ましくは約 $10^8 M^{-1}$ 、より好ましくは約 $10^9 M^{-1} \sim 10^{10} M^{-1}$ またはそれよりも強い）の親和性定数でI L - 2 1 またはI L - 2 1 Rに結合する。

20

【0011】

例えば、I L - 2 1 / I L - 2 1 Rアンタゴニストは、I L - 2 1 を中和することによってI L - 2 1 Rの活性を低下および／または阻害することができる。1つの実施形態において、アンタゴニストは、I L - 2 1 R以外のフラグメント（例えば、免疫グロブリンF c領域）に融合されたI L - 2 1 Rのフラグメントを含む融合タンパク質であり得る。他の実施形態において、アンタゴニストは、抗I L - 2 1 R抗体または抗I L - 2 1 抗体またはその抗原結合性フラグメント、I L - 2 1 受容体の可溶性形態、ペプチドまたは小分子阻害剤である。

30

【0012】

1つの実施形態において、I L - 2 1 / I L - 2 1 Rアンタゴニストは抗I L - 2 1 R抗体または抗I L - 2 1 抗体またはその抗原結合性フラグメントである；例えば、抗体は、I L - 2 1（例えば、ヒトI L - 2 1）またはI L - 2 1受容体（例えば、ヒトI L - 2 1受容体ポリペプチド）に結合するモノクローナル抗体または単一特異性抗体、あるいは、その抗原結合性フラグメント（例えば、F a b、F ( a b ' )<sub>2</sub>、F v または単鎖F vフラグメント）である。好ましくは、抗体は、ヒトI L - 2 1ポリペプチドまたはヒトI L - 2 1受容体ポリペプチドに対するヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体またはインビトロ作製抗体である。好ましくは、抗体は中和抗体である。

【0013】

他の実施形態において、I L - 2 1 / I L - 2 1 Rアンタゴニストには、I L - 2 1 ポリペプチドの全長またはI L - 2 1 ポリペプチドのフラグメント、例えば、I L - 2 1 ポリペプチドの阻害性のI L - 2 1受容体結合ドメイン、例えば、ヒトI L - 2 1 ポリペプチド（例えば、配列番号1 9として示されるアミノ酸配列を有する本明細書中に記載されるヒトI L - 2 1ポリペプチド）、もしくは、配列番号1 9に対する同一性が少なくとも85%、90%、95%、98%もしくはそれ以上である配列、または、配列番号1 8として示される対応するヌクレオチド配列、もしくは、配列番号1 8に対する同一性が少なくとも85%、90%、95%、98%もしくはそれ以上である配列によってコードされるものの阻害性のI L - 2 1受容体結合ドメインが含まれる。あるいは、アンタゴニストには、全長（配列番号2のおよそアミノ酸1～538またはアミノ酸20～538に由来するか、あるいは、配列番号1 0のおよそアミノ酸1～529またはアミノ酸20～5

40

50

29に由来する)、または、IL-21受容体ポリペプチドのフラグメント、例えば、IL-21受容体ポリペプチドのIL-21結合ドメイン、例えば、IL-21Rの可溶性フラグメント(例えば、マウスIL-21RまたはヒトIL-21Rの細胞外ドメインを含むIL-21Rのフラグメント、例えば、配列番号2(ヒト)のおよそアミノ酸1~235、アミノ酸1~236、アミノ酸20~235、アミノ酸20~236に由来するフラグメント、または、配列番号10(マウス)のおよそアミノ酸1~236、アミノ酸20~236に由来するフラグメント、あるいは、配列番号1もしくは配列番号9の対応するヌクレオチド、または、配列番号1もしくは配列番号9に対する同一性が少なくとも85%、90%、95%、98%もしくはそれ以上である配列によってコードされるフラグメント)が含まれる。

10

## 【0014】

1つの実施形態において、アンタゴニストは、上記のIL-21ポリペプチドもしくはIL-21受容体ポリペプチドまたはそれらのフラグメントを含み、かつ、例えば、第2の成分、例えば、ポリペプチド(例えば、免疫グロブリン鎖、GSTポリペプチド配列、Lex-Aポリペプチド配列またはMBPポリペプチド配列)に融合された融合タンパク質である。好ましい実施形態において、融合タンパク質は少なくとも、IL-21と結合することができるIL-21Rポリペプチドのフラグメント、例えば、IL-21Rの可溶性フラグメント(例えば、マウスIL-21RまたはヒトIL-21Rの細胞外ドメインを含むIL-21Rのフラグメント、例えば、配列番号2(ヒト)のおよそアミノ酸1~235、アミノ酸1~236、アミノ酸20~235、アミノ酸20~236に由来するフラグメント、または、配列番号10(マウス)のおよそアミノ酸1~236、アミノ酸20~236に由来するフラグメント、あるいは、配列番号1もしくは配列番号9の対応するヌクレオチド、または、配列番号1もしくは配列番号9に対する同一性が少なくとも85%、90%、95%、98%もしくはそれ以上である配列によってコードされるフラグメント)、および、融合されて、例えば、第2の成分、例えば、ポリペプチド(例えば、免疫グロブリン鎖、Fcフラグメント、様々なイソタイプ(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgDおよびIgEを含む)の重鎖定常領域)を含む。例えば、融合タンパク質は、ヒトIL-21Rの細胞外ドメイン、例えば、配列番号2のおよそアミノ酸1~235、アミノ酸1~236、アミノ酸20~235、アミノ酸20~236に由来するドメイン、および、例えば、融合されて、ヒト免疫グロブリンFc鎖(例えば、ヒトIgG、例えば、ヒトIgG1、例えば、天然に存在するIgG1、または、ヒトIgG1の変異化形態)を含むことができる。1つの実施形態において、ヒトFc配列は、Fc受容体との結合を低下させるために、天然に存在する配列から1個または複数個のアミノ酸が変異しており、例えば、配列番号28の残基254および残基257において変異している。他の実施形態において、融合タンパク質は、マウスIL-21Rの細胞外ドメイン、例えば、配列番号10(マウス)のおよそアミノ酸1~236、アミノ酸20~235に由来するドメイン、および、例えば、融合されて、マウス免疫グロブリンFc鎖(例えば、マウスIgG、例えば、マウスIgG2a、または、マウスIgG2aの変異化形態)を含むことができる。

20

30

## 【0015】

融合タンパク質はさらに、第1の成分(例えば、IL-21Rフラグメント)を第2の成分(例えば、免疫グロブリンフラグメント)につなぐリンカー配列を含むことができる。他の実施形態において、さらなるアミノ酸配列を、発現、立体的柔軟性、検出および/または単離もしくは精製を容易にするために、融合タンパク質のN末端またはC末端に附加することができる。

40

## 【0016】

本発明の方法において使用することができるアンタゴニスト性融合タンパク質の例が図7~図15に示される。1つの実施形態において、融合タンパク質は、例えば、配列番号23、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号33、配列番号35、配列番号37または配列番号39から選ばれるアミノ酸配列、あるいは、それ

50

らに対する同一性が少なくとも 85%、90%、95%、98% またはそれ以上である配列を含む。他の実施形態において、融合タンパク質は、例えば、配列番号 22、配列番号 24、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 34、配列番号 36 または配列番号 38 から選ばれるヌクレオチド配列、あるいは、それらに対する同一性が少なくとも 85%、90%、95%、98% またはそれ以上である配列によってコードされるアミノ酸配列を含む。好ましい融合タンパク質は、配列番号 25 または配列番号 29 として示されるアミノ酸配列（それぞれ、図 8A～図 8C および図 10A～図 10C）、あるいは、配列番号 25 または配列番号 29 に対する同一性が少なくとも 85%、90%、95%、98% またはそれ以上である配列を有する。他の実施形態において、融合タンパク質は、例えば、配列番号 24 または配列番号 28 から選ばれるヌクレオチド配列（それぞれ、図 8A～図 8C および図 10A～図 10C）、あるいは、配列番号 24 または配列番号 28 に対する同一性が少なくとも 85%、90%、95%、98% またはそれ以上である配列によってコードされるアミノ酸配列を含む。最も好ましくは、融合タンパク質は、配列番号 29 として示されるアミノ酸配列を有するか、あるいは、配列番号 28 として示されるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列（図 10A～図 10C）を有する。

10

#### 【0017】

本明細書中に記載される IL-21 / IL-21R アンタゴニスト（例えば、本明細書中に記載される融合タンパク質）は誘導体化することができ、または、別の機能的な分子、例えば、別のペプチドまたはタンパク質（例えば、Fab' フラグメント）に連結することができる。例えば、融合タンパク質または抗体または抗原結合性部分を、1つまたは複数の他の分子的実体に、例えば、特に、抗体（例えば、二重特異性抗体または多重特異性抗体）、毒素、放射性同位体、細胞傷害性薬剤または細胞増殖抑制剤などに（化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合的会合または他の方法によって）機能的に連結することができる。

20

#### 【0018】

1つの実施形態において、本明細書中に記載される IL-21 / IL-21R アンタゴニスト（例えば、その医薬組成物）は併用治療において投与される。すなわち、本明細書中に記載される IL-21 / IL-21R アンタゴニスト（例えば、その医薬組成物）は、炎症性障害または自己免疫障害を処置するために、例えば、関節炎障害（RA、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎または強直性脊椎炎を含む）；SLE；糸球体腎炎；皮膚の炎症性障害（例えば、乾癬）；呼吸器障害（例えば、喘息、COPD）；アトピー性障害；線維化障害（例えば、肺線維症または肝臓線維症）；腸の炎症性障害（例えば、IBD、例えば、クローン病または潰瘍性大腸炎）；または移植 / 移植片拒絶の1つまたは複数から選ばれる障害を処置するために有用である他の薬剤（例えば、治療剤）と組み合わされる。例えば、併用治療では、本明細書中に記載されるように、1つまたは複数のさらなる治療剤（例えば、1つまたは複数のサイトカイン阻害剤および増殖因子阻害剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、代謝阻害剤、酵素阻害剤、および / または、細胞傷害性薬剤または細胞増殖抑制剤など）と同時配合および / または同時投与される1つまたは複数の IL-21 / IL-21R アンタゴニスト（例えば、抗 IL-21 抗体または抗 IL-21R 抗体あるいはその抗原結合性フラグメント；IL-21R 融合タンパク質；可溶性の IL-21R 受容体、ペプチド阻害剤または小分子阻害剤）を含むことができる。

30

#### 【0019】

1つまたは複数の IL-21 / IL-21R アンタゴニストと同時投与および / または同時配合することができる好ましいさらなる治療剤の例には、下記の1つまたは複数が含まれるが、それらに限定されない：TNF アンタゴニスト（例えば、TNF に結合するキメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体またはインビトロ作製抗体、あるいは、それらの抗原結合性フラグメント）；TNF 受容体の可溶性フラグメント、例えば、p55 または p75 のヒト TNF 受容体またはその誘導体、例えば、75kDa TNFR-IgG (75kDa の TNF 受容体 - IgG 融合タンパク質、ENBREL (商標) )、p55 kDa T

40

50

N F受容体 - I g G融合タンパク質；TN F酵素アンタゴニスト、例えば、TN F変換酵素(TACE)阻害剤)；IL-6、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-22のアンタゴニスト；T細胞枯渇化剤およびB細胞枯渇化剤(例えば、抗CD4抗体または抗CD22抗体)；小分子阻害剤、例えば、メトトレキサートおよびレフルノミド；シロリムス(ラパマイシン)およびそのアナログ、例えば、CCI-779；Cox-2阻害剤およびcPLA2阻害剤；NSAID；p38阻害剤、TPL-2阻害剤、MK-2阻害剤およびNFib阻害剤；RAGEまたは可溶性RAGE；P-セレクチン阻害剤またはPSGL-1阻害剤(例えば、小分子阻害剤、それらに対する抗体、例えば、P-セレクチンに対する抗体)；エストロゲン受容体(ERB)アゴニストまたはERB-NFbアンタゴニスト。1つまたは複数のIL-21/IL-21Rアンタゴニストと同時投与および/または同時配合することができる最も好ましいさらなる治療剤には、TN F受容体の可溶性フラグメント、例えば、p55もしくはp75のヒトTN F受容体またはそれらの誘導体、例えば、75k dTNFR-IgG(75kDaのTN F受容体-Ig G融合タンパク質、ENBREL(商標))；メトトレキサート、レフルノミド、または、シロリムス(ラパマイシン)もしくはそのアナログ(例えば、CCI-779)の1つまたは複数が含まれる。

10

## 【0020】

別の態様において、免疫細胞の活性(例えば、成熟T細胞(例えば、成熟したCD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、リンパ節T細胞、記憶T細胞)、成熟NK細胞、B細胞、抗原提示細胞(APC)(例えば、樹状細胞、マクロファージおよび巨核芽球)、または、細胞の集団(例えば、混合または実質的に精製された免疫細胞集団)の1つまたは複数の活性)を低下させるための方法が提供される。この方法は、免疫細胞を、免疫細胞の活性を低下させるために十分な量でのIL-21/IL-21Rアンタゴニスト(例えば、本明細書中に記載されるようなアンタゴニスト)と接触させることを含む。

20

## 【0021】

別の態様において、本発明は、IL-21ポリペプチドと結合することができるIL-21Rポリペプチドのフラグメント、例えば、IL-21Rの可溶性フラグメント(例えば、マウスIL-21RまたはヒトIL-21Rの細胞外ドメインを含むIL-21Rのフラグメント、例えば、配列番号2(ヒト)のおよそアミノ酸1~235、アミノ酸1~236、アミノ酸20~235、アミノ酸20~236に由来するフラグメント、または、配列番号10(マウス)のおよそアミノ酸1~236、アミノ酸20~236に由来するフラグメント、あるいは、配列番号1もしくは配列番号9の対応するヌクレオチド、または、配列番号1もしくは配列番号9に対する同一性が少なくとも85%、90%、95%、98%もしくはそれ以上である配列によってコードされるフラグメント)、および、例えば、融合されて、第2の成分、例えば、ポリペプチド(例えば、免疫グロブリン鎖、Fcフラグメント、様々なイソタイプ(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgDおよびIgEを含む)の重鎖定常領域)を含む融合タンパク質を特徴とする。例えば、融合タンパク質は、ヒトIL-21Rの細胞外ドメイン、例えば、配列番号2のおよそアミノ酸1~235、アミノ酸1~236、アミノ酸20~235、アミノ酸20~236に由来するドメイン、および、例えば、融合されて、ヒト免疫グロブリンFc鎖(例えば、ヒトIgG、例えば、ヒトIgG1、または、ヒトIgG1の変異化形態)を含むことができる。1つの実施形態において、ヒトFc配列は、Fc受容体との結合を低下させるために、野生型配列から1個または複数個のアミノ酸が変異しており、例えば、配列番号28の残基254および残基257において変異している。他の実施形態において、融合タンパク質は、マウスIL-21Rの細胞外ドメイン、例えば、配列番号10(マウス)のおよそアミノ酸1~236、アミノ酸20~236に由来するドメイン、および、例えば、融合されて、マウス免疫グロブリンFc鎖(例えば、マウスIgG、例えば、マウスIgG2a、または、マウスIgG2aの変異化形態)を含むことができる。融合タンパク質はさらに、IL-21Rフラグメントを第2の成分につなぐリンカー配列を含むことができる。他の実施形態において、さらなるアミノ酸配列

30

40

50

を、発現、検出および／または単離もしくは精製を容易にするために、融合タンパク質のN末端またはC末端に付加することができる。

#### 【0022】

本発明はまた、本明細書中に記載される融合タンパク質をコードする核酸配列を特徴とする。

#### 【0023】

別の態様において、本発明は、本発明の核酸を含有する宿主細胞およびベクターを特徴とする。好ましくは、宿主細胞は、真核生物細胞（例えば、哺乳動物細胞、昆虫細胞または酵母細胞）、あるいは、原核生物細胞（例えば、大腸菌）である。例えば、哺乳動物細胞は培養細胞または細胞株が可能である。例示的な哺乳動物細胞には、リンパ球細胞株（例えば、NSO）、チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）、COS細胞、卵母細胞、および、トランスジェニック動物に由来する細胞（例えば、乳房上皮細胞）が含まれる。例えば、本明細書中に記載される融合タンパク質をコードする核酸をトランスジェニック動物において発現させることができる。1つの実施形態において、核酸は組織特異的プロモーター（例えば、乳房特異的プロモーター）の制御下に置かれ、抗体がトランスジェニック動物において産生される。例えば、融合タンパク質がトランスジェニック動物（例えば、遺伝子組換えされたウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ヤギまたは齧歯類）の乳汁に分泌される。

10

#### 【0024】

別の態様において、本発明は、融合タンパク質（例えば、本明細書中に記載されるような融合タンパク質）を作製するための方法を提供する。この方法は、（a）本発明の宿主細胞の培養物を好適な培養培地において成長させること、および（b）融合タンパク質を培養物から精製することを含む。これらの方法に従って作製されたタンパク質もまた提供される。

20

#### 【0025】

別の態様において、本発明は、医薬的に許容され得るキャリアと、本明細書中に記載されるようなIL-21/IL-21Rアンタゴニストの少なくとも1つ（例えば、本明細書中に記載される融合タンパク質）とを含む組成物（例えば、医薬組成物）を提供する。1つの実施形態において、組成物（例えば、医薬組成物）は2つ以上のIL-21/IL-21Rアンタゴニストの組合せを含む。IL-21/IL-21Rアンタゴニストと、薬物、例えば、治療剤（例えば、本明細書中に記載されるような1つまたは複数のサイトカイン阻害剤および増殖因子阻害剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、代謝阻害剤、酵素阻害剤、および／または、細胞傷害性薬剤もしくは細胞増殖抑制剤など）または抗原（例えば、抗原性ペプチドおよび／または抗原提示細胞）との組合せもまた本発明の範囲内である。

30

#### 【0026】

1つの実施形態において、医薬組成物は、IL-21/IL-21Rアンタゴニストと、少なくとも1つのさらなる治療剤とを、医薬的に許容され得るキャリアにおいて含む。1つまたは複数のIL-21/IL-21Rアンタゴニストを有する組成物（例えば、医薬組成物）において同時配合することができる好ましいさらなる治療剤の例には、下記の1つまたは複数が含まれるが、それらに限定されない：TNFアンタゴニスト（例えば、TNFに結合するキメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体またはインビトロ作製抗体、あるいは、それらの抗原結合性フラグメント）；TNF受容体の可溶性フラグメント、例えば、p55もしくはp75のヒトTNF受容体またはそれらの誘導体、例えば、75kDaTNFR-IgG（75kDaのTNF受容体-IgG融合タンパク質、ENBREL（商標））、p55kDaTNF受容体-IgG融合タンパク質；TNF酵素アンタゴニスト、例えば、TNF変換酵素（TACE）阻害剤；IL-6、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-22のアンタゴニスト；T細胞枯渇化剤およびB細胞枯渇化剤（例えば、抗CD4抗体または抗CD22抗体）；小分子阻害剤（例えば、メトトレキサートおよびレフルノミド；シロリムス（ラパマイシン）およびそのアナログ、例えば、CCI-779；Cox-2阻害剤およびcPLA2阻害剤；NSAID；p38

40

50

阻害剤、T P L - 2 阻害剤、M k - 2 阻害剤およびN F b 阻害剤；R A G E または可溶性R A G E ；P - セレクチン阻害剤またはP S G L - 1 阻害剤（例えば、小分子阻害剤、それらに対する抗体、例えば、P - セレクチンに対する抗体）；エストロゲン受容体（E R B）アゴニストまたはE R B - N F b アンタゴニスト。1つまたは複数のI L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストと同時投与および/または同時配合することができる最も好ましいさらなる治療剤には、T N F 受容体の可溶性フラグメント、例えば、p 5 5 もしくはp 7 5 のヒトT N F 受容体またはそれらの誘導体、例えば、7 5 k d T N F R - I g G (7 5 k D a のT N F 受容体 - I g G 融合タンパク質、E N B R E L (商標))；メトトレキサート、レフルノミド、または、シロリムス（ラパマイシン）もしくはそのアナログ（例えば、C C I - 7 7 9 ）の1つまたは複数が含まれる。

10

## 【0 0 2 7】

別の態様において、本発明は、対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）におけるアトピー性障害を処置、改善または防止するための方法を特徴とする。この方法は、I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストを、例えば、障害を処置、改善または防止するために十分な量で、あるいは、免疫細胞の活性および/または細胞数を阻害または低下させるために十分な量で対象に投与することを含む。1つの実施形態において、アトピー性障害はアレルギー性喘息である。別の実施形態において、アトピー性障害は、アトピー性皮膚炎、じんま疹、湿疹、アレルギー性鼻炎またはアレルギー性胃腸炎である。1つの実施形態において、I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストは、別の治療剤（例えば、サイトカイン阻害剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、酵素阻害剤、ロイコトリエンアンタゴニスト、気管支拡張剤、2 - アドレナリン作動性受容体アゴニスト、抗ムスカリン剤またはマスト細胞安定化剤）との組合せで投与することができる。アトピー性障害を処置、改善または防止するためにI L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストとの組合せで投与することができる好ましい治療剤の例には、例えば、T N F アンタゴニスト、I L - 6 アンタゴニスト、I L - 1 2 アンタゴニスト、I L - 1 5 アンタゴニスト、I L - 1 7 アンタゴニスト、I L - 1 8 アンタゴニスト、I L - 2 2 アンタゴニスト、T 細胞枯渇化剤、B 細胞枯渇化剤、メトトレキサート、レフルノミド、シロリムス（ラパマイシン）またはそのアナログ、C o x - 2 阻害剤、c P L A 2 阻害剤、N S A I D およびp 3 8 阻害剤が含まれる。

20

## 【0 0 2 8】

別の態様において、本発明は、対象における自己免疫障害を処置、改善または防止するための方法を特徴とする。この方法は、I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストを、例えば、障害を処置、改善または防止するために十分な量で、あるいは、免疫細胞の活性および/または細胞数を阻害または低下させるために十分な量で対象に投与することを含む。1つの実施形態において、自己免疫障害は狼瘡（例えば、S L E ）である。1つの実施形態において、I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストは、別の治療剤（例えば、サイトカイン阻害剤、増殖因子阻害剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、代謝阻害剤、酵素阻害剤、細胞傷害性薬剤または細胞増殖抑制剤）との組合せで投与することができる。自己免疫障害を処置、改善または防止するためにI L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストとの組合せで投与することができる好ましい治療剤の例には、例えば、T N F アンタゴニスト、I L - 6 アンタゴニスト、I L - 1 2 アンタゴニスト、I L - 1 5 アンタゴニスト、I L - 1 7 アンタゴニスト、I L - 1 8 アンタゴニスト、I L - 2 2 アンタゴニスト、T 細胞枯渇化剤、B 細胞枯渇化剤、クロロキン、ヒドロキシクロロキン、メトトレキサート、レフルノミド、シロリムス（ラパマイシン）またはそのアナログ、C o x - 2 阻害剤、c P L A 2 阻害剤、N S A I D およびp 3 8 阻害剤が含まれる。

30

## 【0 0 2 9】

別の態様において、本発明は、対象における線維化障害を処置、改善または防止するための方法を特徴とする。この方法は、I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストを、例えば、障害を処置、改善または防止するために十分な量で、あるいは、免疫細胞の活性および/または細胞数を阻害または低下させるために十分な量で対象に投与することを含む。例えば、対象は、体内器官の線維化（例えば、肝臓線維症、腎臓線維症または肺線維症）

40

50

、皮膚線維化性障害、または、眼の線維化状態を有し得るか、あるいは、体内器官の線維化（例えば、肝臓線維症、腎臓線維症または肺線維症）、皮膚線維化性障害、または、眼の線維化状態についての危険性を有し得る。

【0030】

別の態様において、本発明は、臓器、組織または細胞を対象に移植またはグラフト化する方法を特徴とする。この方法は、IL-21/IL-21Rアンタゴニストを、例えば、移植またはグラフト化の前、移植またはグラフト化の期間中、あるいは、移植またはグラフト化の後で対象に投与することを含む。移植またはグラフト化された臓器および組織には、例えば、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、骨髄、軟骨、角膜、ニューロン組織、および、それらの細胞が含まれ得るが、これらに限定されない。1つの実施形態において、IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、別の治療剤（例えば、サイトカイン阻害剤、増殖因子阻害剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、代謝阻害剤、酵素阻害剤、細胞傷害性薬剤および細胞増殖抑制剤）との組合せで投与される。IL-21/IL-21Rアンタゴニストとの組合せで投与することができる好ましい治療剤の例には、例えば、ラパマイシン、シクロスボリン、抗CTLA-4抗体、抗CD40抗体、抗CD40L抗体および抗CD154抗体が含まれる。

10

【0031】

別の態様において、本発明は、移植／移植片拒絶の症状、または、移植／移植片拒絶に関連する障害（例えば、線維化または移植片対宿主病（GVHD））について、移植／移植片レシピエントを評価および処置する方法を特徴とする。この方法は、移植／移植片拒絶の症状を有する対象を特定すること、および、IL-21/IL-21Rアンタゴニストを、例えば、移植拒絶の症状を処置または改善するために十分な量で投与することを含む。移植／移植片拒絶の症状には、炎症、低下した臓器機能、異常な生検、および、線維化が含まれる。別の実施形態において、本発明は、IL-21/IL-21Rアンタゴニストを投与することによって、移植／移植片拒絶、または、移植／移植片拒絶に関連する障害を防止する方法（例えば、移植／移植片拒絶、または、移植／移植片拒絶に関連する障害の危険性を低下させる方法）を提供する。

20

【0032】

別の態様において、本発明は、移植／移植片拒絶、または、移植／移植片拒絶に関連する障害を対象において処置、改善または防止するための方法を特徴とする。この方法は、IL-21/IL-21Rアンタゴニストを、拒絶を処置または改善または防止するため（例えば、拒絶の危険性を低下させるために）十分な量で、あるいは、免疫細胞の活性および／または細胞数を阻害または低下させるために十分な量で対象に投与することを含む。移植された臓器または組織には、例えば、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓または骨髄が含まれ得る。1つの実施形態において、IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、別の治療剤（例えば、サイトカイン阻害剤、増殖因子阻害剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、代謝阻害剤、酵素阻害剤、細胞傷害性薬剤または細胞増殖抑制剤）との組合せで投与することができる。移植／移植片拒絶を処置、改善または防止するためにIL-21/IL-21Rアンタゴニストとの組合せで投与することができる好ましい治療剤の例には、例えば、ラパマイシン、シクロスボリン、抗CTLA-4抗体、抗CD40抗体、抗CD40L抗体および抗CD154抗体が含まれる。

30

【0033】

下記の用語群は本明細書中では交換可能に使用される：「MU-1」および「IL-21R」、ならびに、ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質。

40

【0034】

別途定義されない限り、本明細書中で使用されるすべての技術的用語および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書中に記載される方法および材料と類似または同等な様々な方法および材料を、本発明の実施または試験において使用することができるが、好適な方法および材料が下記に記載される。本明細書中で言及されるすべての刊行物、特許出願、特許および他の参考文

50

献は、その全体が参照して組み込まれる。矛盾する場合、定義を含めて、本明細書が優先する。加えて、材料、方法および実施例は例示にすぎず、限定であることは意図されない。

### 【0035】

本発明の他の特徴および利点が下記の詳細な説明および請求項から明らかになる。

### 【発明を実施するための最良の形態】

### 【0036】

インターロイキン-21 (IL-21) / IL-21受容体 (MU-1) の活性を、IL-21またはIL-21受容体 ('IL-21R' または 'MU-1') のアンタゴニストを使用して阻害するための方法および組成物が開示される。IL-21 / IL-21Rアンタゴニストは、炎症性障害または自己免疫障害 (例えば、成熟T細胞 (例えば、成熟CD8<sup>+</sup>T細胞、成熟CD4<sup>+</sup>T細胞)、成熟NK細胞、B細胞、マクロファージおよび巨核芽球の1つまたは複数の異常な活性に関連する障害、これらには、移植 / 移植片拒絶、乾癬および自己免疫障害 (例えば、関節リウマチおよびIBDなど) が含まれる) を処置または防止するためにインビボで免疫抑制を誘導するように使用することができる。

10

### 【0037】

1つの実施形態において、本出願人は、Fc免疫グロブリン領域に融合されたIL-21Rの細胞外ドメインを含む中和する融合タンパク質を使用することによるIL-21R活性の低下により、炎症症状がコラーゲン誘導関節炎 (CIA) 動物モデル (実施例7)において改善され、同様に、IBDについての動物モデル (実施例9および実施例11)、移植片拒絶についての動物モデル (実施例10)、乾癬についての動物モデル (実施例11)、および、狼瘡についての動物モデル (実施例13)において改善されることを示している。IL-21RのmRNAの発現がCIAマウスの足においてアップレギュレーションされる (実施例8)。IL-21R欠損マウスは抗原誘導による気道炎症の低下を示す (実施例12)。従って、IL-21 / IL-21Rの活性を中和するIL-21R結合性因子は、例えば、炎症性障害または自己免疫障害 (例えば、糸球体腎炎、移植 / 移植片拒絶、乾癬、アトピー性障害、喘息、自己免疫障害 (例えば、関節リウマチおよびSLEなど) およびIBD (例えば、クローン病、潰瘍性大腸炎) を処置または防止するためにインビボで免疫抑制を誘導するように使用することができる。

20

### 【0038】

本発明がより容易に理解され得るために、いくつかの用語が最初に定義される。さらなる定義が詳細な説明の至るところに示される。

30

### 【0039】

本明細書中で使用される用語 'MU-1'、用語 'MU-1タンパク質'、「インターロイキン-21受容体」または用語 'IL-21R' は、NILRとしてもまた知られているクラスIのサイトカインファミリー受容体を示す (国際特許出願WO01/85792; Parrish-Novak et al. (2000)、Nature、408:57-63; Ozaki et al. (2000)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、97:11439-444)。MU-1は、IL-2受容体およびIL-15受容体の共通する鎖に対して、また、IL-4に対して相同的である (Ozaki et al. (2000)、supra)。リガンドと結合したとき、IL-21R / MU-1は、共通するサイトカイン受容体鎖 (c) と相互作用し (Asao et al. (2001)、J. Immunol.、167:1-5)、STAT1およびSTAT3のリン酸化 (Asao et al. (2001)) またはSTAT5のリン酸化 (Ozaki et al. (2000)) を誘導することができる。MU-1は広範囲のリンパ系組織分布を示す。用語 'MU-1' は、例えば、IL-21 (好ましくは、哺乳動物IL-21、例えば、マウスIL-21またはヒトIL-21) と相互作用することができ (例えば、IL-21 (好ましくは、哺乳動物IL-21、例えば、マウスIL-21またはヒトIL-21) に結合することができ)、かつ、下記の特徴の1つを有することができる受容体 (好ましくは、哺乳動物起源、例えば、マウス起源またはヒト起源) を示す: (i) 天然に存在する哺乳動物MU-1ポリペプチドIL-21R / MU-1のアミノ酸配列またはそのフラグメント、例えば、配列番号2 (ヒト) または配列番号1

40

50

0 (マウス) として示されるアミノ酸配列、あるいは、そのフラグメント；(i i) 配列番号 2 (ヒト) または配列番号 1 0 (マウス) として示されるアミノ酸配列に対して実質的に相同的 (例えば、少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % 相同的) であるアミノ酸配列、あるいは、そのフラグメント；(i i i) 天然に存在する哺乳動物 I L - 2 1 R / M U - 1 ヌクレオチド配列またはそのフラグメント (例えば、配列番号 1 (ヒト) または配列番号 9 (マウス) またはそのフラグメント) によってコードされるアミノ酸配列；(i v) 配列番号 1 (ヒト) または配列番号 9 (マウス) として示されるヌクレオチド配列またはそのフラグメントに対して実質的に相同的 (例えば、少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % または 9 9 % 相同的) であるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；(v) 天然に存在する I L - 2 1 R / M U - 1 ヌクレオチド配列またはそのフラグメント (例えば、配列番号 1 (ヒト) または配列番号 9 (マウス) またはそのフラグメント) に対して縮重しているヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；または (v i) 前記ヌクレオチド配列の 1 つにストリンジエントな条件 (例えば、非常にストリンジエントな条件) のもとでハイブリダイゼーションするヌクレオチド配列。

10

## 【0040】

I L - 2 1 R / M U - 1 は哺乳動物起源であり、好ましくは、ヒト起源である。ヒト I L - 2 1 R / M U - 1 のヌクレオチド配列および予測されるアミノ酸配列が配列番号 1 および配列番号 2 にそれぞれ示される。ヒト I L - 2 1 R / M U - 1 のアミノ酸配列 (配列番号 2、図 2 B) の分析により、下記の構造的特徴が明らかにされた：リーダー配列 (配列番号 2 のおよそアミノ酸 1 ~ 1 9 (図 2 B))；W S X W S モチーフ (配列番号 2 のおよそアミノ酸 2 1 3 ~ 2 1 7)；膜貫通ドメイン (配列番号 2 のおよそアミノ酸 2 3 6 ~ 2 5 2 (図 2 B))；配列番号 2 のおよそアミノ酸 1 ~ 2 3 5 の細胞外ドメイン；および配列番号 2 のおよそアミノ酸 2 5 3 ~ 5 3 8 の細胞内ドメイン。成熟型のヒト I L - 2 1 R / M U - 1 は配列番号 2 のアミノ酸 2 0 ~ 5 3 8 の配列を有すると考えられる。

20

## 【0041】

I L - 2 1 R / M U - 1 の c D N A を、A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n に 1 9 9 8 年 3 月 1 0 日 に アクセシヨン番号 A T C C 9 8 6 8 7 として寄託した。

30

## 【0042】

全長でない I L - 2 1 R / M U - 1 タンパク質の任意の形態を、I L - 2 1 ポリペプチドに結合する能力を保持するならば、本発明の方法および組成物において使用することができる。全長でない I L - 2 1 R / M U - 1 タンパク質 (例えば、可溶性 I L - 2 1 R) を、全長の M U - 1 タンパク質をコードするポリヌクレオチドの対応するフラグメントを宿主細胞において発現させることによって作製することができる。これらの対応するポリヌクレオチドフラグメントもまた本発明の一部である。上記に記載されるような改変されたポリヌクレオチドは、適切な所望される欠失変異体の構築、部位特異的変異誘発法、または、適切なオリゴヌクレオチドプライマーを使用するポリメラーゼ連鎖反応をはじめとする標準的な分子生物学的技術によって作製することができる。

40

## 【0043】

本明細書中で使用される「可溶性の I L - 2 1 R / M U - 1 ポリペプチド」は、自身を膜内に固定することができない I L - 2 1 R / M U - 1 ポリペプチドである。そのような可溶性ポリペプチドには、例えば、ポリペプチドを固定するためのその膜貫通ドメインの十分な部分を有しない M U - 1 ポリペプチドまたは I L - 2 1 R ポリペプチド、あるいは、膜貫通ドメインが機能を有しないように改変される M U - 1 ポリペプチドまたは I L - 2 1 R ポリペプチドが含まれ、例えば、I L - 2 1 R の可溶性フラグメント (例えば、マウス I L - 2 1 R またはヒト I L - 2 1 R の細胞外ドメインを含む I L - 2 1 R のフラグメントには、配列番号 2 (ヒト) のおよそアミノ酸 1 ~ 2 3 5、アミノ酸 1 ~ 2 3 6、アミノ酸 2 0 ~ 2 3 5、アミノ酸 2 0 ~ 2 3 6 に由来するアミノ酸配列、または、配列番号 1 0 (マウス) のおよそアミノ酸 1 ~ 2 3 6、アミノ酸 2 0 ~ 2 3 6 に由来するアミノ酸

50

配列が含まれる)が含まれる。可溶性のIL-21R/MU-1ポリペプチドはさらに、例えば、第2の成分、例えば、ポリペプチド(例えば、免疫グロブリン鎖、GSTポリペプチド配列、Lex-Aポリペプチド配列またはMBPポリペプチド配列)を含むことができ、例えば、そのような第2の成分に融合され得る。例えば、融合タンパク質は少なくとも、IL-21と結合することができるIL-21Rポリペプチドのフラグメント、例えば、IL-21Rの可溶性フラグメント(例えば、マウスIL-21RまたはヒトIL-21Rの細胞外ドメインを含むIL-21Rのフラグメント、例えば、配列番号2(ヒト)のおよそアミノ酸1~235、アミノ酸1~236、アミノ酸20~235、アミノ酸20~236に由来するフラグメント、または、配列番号10(マウス)のおよそアミノ酸1~236、アミノ酸20~236に由来するフラグメント)を、第2の成分(例えば、ポリペプチド(例えば、免疫グロブリン鎖、Fcフラグメント、様々なイソタイプ(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgDおよびIgEを含む)の重鎖定常領域)に融合されて含むことができる。

10

20

30

40

## 【0044】

用語「インターロイキン-21」または用語「IL-21」は、IL-2、IL-4およびIL-15に対する配列相同性を示すサイトカインを示す(Parrish-Novak et al. (2000)、Nature、408:57-63)。インターロイキンサイトカイン間の低い配列相同性にもかかわらず、様々なサイトカインはともに共通して、このファミリーに代表的な「4ヘリックスバンドル」構造に折り畳まれる。IL-21は、活性化されたCD4<sup>+</sup>T細胞において主に発現し、NK細胞、B細胞およびT細胞に対する作用を有することが報告されている(Parrish-Novak et al. (2000)、supra;Kasaian et al. (2002)、supra)。IL-21はIL-21R(これはまた、本明細書中ではMU-1およびNILRとして示される)に結合する。IL-21と結合したとき、IL-21Rの活性化はSTAT5またはSTAT3のシグナル伝達をもたらす(Ozaki et al. (2000)、supra)。用語「IL-21」または用語「IL-21ポリペプチド」は、例えば、IL-21R(好ましくは、哺乳動物IL-21のもの、例えば、マウスIL-21またはヒトIL-21のもの)と相互作用することができ、例えば、IL-21R(好ましくは、哺乳動物IL-21のもの、例えば、マウスIL-21のものまたはヒトIL-21のもの)に結合することができ)、かつ、下記の特徴の1つを有することができるタンパク質(好ましくは、哺乳動物起源、例えば、マウス起源またはヒト起源)を示す:(i)天然に存在する哺乳動物IL-21のアミノ酸配列またはそのフラグメント、例えば、配列番号19(ヒト)として示されるアミノ酸配列、または、そのフラグメント；(ii)配列番号19(ヒト)として示されるアミノ酸配列に対して実質的に相同的(例えば、少なくとも85%、90%、95%、98%または99%相同的)であるアミノ酸配列、または、そのフラグメント；(iii)天然に存在する哺乳動物IL-21ヌクレオチド配列またはそのフラグメント(例えば、配列番号18(ヒト)またはそのフラグメント)によってコードされるアミノ酸配列；(iv)配列番号18(ヒト)として示されるヌクレオチド配列またはそのフラグメントに対して実質的に相同的(例えば、少なくとも85%、90%、95%、98%または99%相同的)であるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列；(v)天然に存在するIL-21Rヌクレオチド配列またはそのフラグメントに対して縮重しているヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列(例えば、配列番号19(ヒト)またはそのフラグメント)；または(vi)前記ヌクレオチド配列の1つにストリンジエントな条件(例えば、非常にストリンジエントな条件)のもとでハイブリダイゼーションするヌクレオチド配列。

30

40

## 【0045】

MU-1ポリペプチドまたはIL-21Rポリペプチド「の生物学的活性」の表現は、対応する成熟MU-1タンパク質の生物学的活性の1つまたは複数を示し、生物学的活性には、(1)IL-21ポリペプチド(例えば、ヒトIL-21ポリペプチド)と相互作用すること、例えば、IL-21ポリペプチド(例えば、ヒトIL-21ポリペプチド)に結合すること；(2)シグナル伝達分子(例えば、c、JAK1)と会合すること；

50

(3) stat タンパク質（例えば、STAT5 および / または STAT3）のリン酸化および / または活性化を刺激すること；および / または (4) 免疫細胞（例えば、T 細胞（CD8+T 細胞、CD4+T 細胞）、NK 細胞、B 細胞、マクロファージおよび巨核芽球）の増殖、分化、エフェクター細胞機能、細胞溶解活性、サイトカイン分泌および / または生存を調節（例えば、刺激または低下）することが含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0046】

本明細書中で使用される場合、本発明の方法において有用な「IL-21 / IL-21R アンタゴニスト」は、IL-21 / MU-1 ポリペプチドの 1 つまたは複数の生物学的活性を低下させるか、または阻害するか、または、そうでない場合には弱める薬剤を示す。1 つの好ましい実施形態において、そのようなアンタゴニストは IL-21R / MU-1 ポリペプチドと相互作用する（例えば、IL-21R / MU-1 ポリペプチドに結合する）。別の好ましい実施形態において、そのようなアンタゴニストは IL-21 ポリペプチドと相互作用する（例えば、IL-21 ポリペプチドに結合する）。IL-21 / IL-21R アンタゴニストを使用するアンタゴニスト作用は、IL-21R / MU-1 ポリペプチドおよび / または IL-21 ポリペプチドの生物学的活性の完全な除去を必ずしも示す必要はない。

#### 【0047】

本明細書中で使用される場合、IL-21 / IL-21R アンタゴニストの「治療効果的な量」は、対象（例えば、ヒト患者）への単回投薬または多回投薬を行ったとき、障害を治療すること、または、障害の重篤度を軽減すること、または、障害の 1 つもしくは複数の症状を改善または防止することにおいて、あるいは、そのような処置がない場合に予想されるよりも長く対象の生存を延ばすことにおいて効果的である薬剤の量を意味する。

#### 【0048】

本明細書中で使用される場合、IL-21 / IL-21R アンタゴニストの「予防効果的な量」は、対象（例えば、ヒト患者）への単回投薬または多回投薬を行ったとき、障害（例えば、本明細書中に記載されるような障害）の発症または再発を防止するか、あるいは、その発症または再発の発生を遅延させることにおいて効果的である IL-21 / IL-21R アンタゴニストの量を示す。

#### 【0049】

用語「誘導する」、用語「阻害する」、用語「強化する」、用語「上昇させる」、用語「増大させる」または用語「低下させる」などは、例えば、2 つの状態の間での量的な差を意味し、2 つの状態の間での少なくとも統計学的に有意な差を示す。

#### 【0050】

本発明に関連して用語「組合せで」は、薬剤が、同時または連続のいずれかであっても、実質的に同時に与えられることを意味する。連続で与えられるならば、第 2 の化合物の投与を開始したときにおいて、2 つの化合物のうちの最初の化合物が、好ましくは、処置部位において、または、対象において効果的な濃度で依然として検出可能である。

#### 【0051】

本明細書中で使用される「融合タンパク質」は、2 つ以上の機能的に結合した（例えば、連結された）成分（例えば、タンパク質成分）を含有するタンパク質を示す。好ましくは、これらの成分は共有結合的に結合する。成分は直接的に結合することができ、あるいは、スペーサーまたはリンカーを介してつなぐことができる。

#### 【0052】

本明細書中で使用される用語「抗体」は、少なくとも 1 つ（好ましくは、2 つ）の重鎖（H 鎖）可変領域（これは本明細書中では VH と略記される）と、少なくとも 1 つ（好ましくは、2 つ）の軽鎖（L 鎖）可変領域（これは本明細書中では VL と略記される）とを含むタンパク質を示す。VH 領域および VL 領域はさらに、より保存されている領域（これは「フレームワーク」（FR）と呼ばれる）が間に存在する超可変性の領域（これは「相補性決定領域」と呼ばれる）（「CDR」）に分けることができる。フレームワーク領

10

20

30

40

50

域およびCDRの範囲は正確に明らかにされている（例えば、Kabata et al. (1991)、Sequences of Proteins of Immunological Interest(Fifth Edition)、米国保健社会福祉省(U.S. Department of Health and Human Services)、NIH Publication No. 91-3242; and Chothia et al. (1987)、J. Mol. Biol.、196:901-17を参照のこと。これらは参照して本明細書中に組み込まれる）。それぞれのVHおよびVLは3つのCDRおよび4つのFRから構成され、これらはアミノ末端からカルボキシ末端に向かって下記の順序で配置される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【0053】

抗体はさらに重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含むことができ、それにより、免疫グロブリンの重鎖および軽鎖をそれぞれ形成する。1つの実施形態において、抗体は、2つの免疫グロブリン重鎖および2つの免疫グロブリン軽鎖からなる四量体であり、この場合、免疫グロブリン重鎖および免疫グロブリン軽鎖は、例えば、ジスルフィド結合によって相互につながれている。重鎖定常領域は3つのドメイン(CH1、CH2およびCH3)から構成される。軽鎖定常領域は1つのドメイン(CL)から構成される。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合性ドメインを含有する。抗体の定常領域は、典型的には、抗体が宿主の組織または因子（これには、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的な補体システムの最初の補体(C1q)が含まれる）に結合することを媒介する。

【0054】

本明細書中で使用される用語「免疫グロブリン」は、免疫グロブリン遺伝子によって実質的にコードされる1個または複数個のポリペプチドからなるタンパク質を示す。認められているヒト免疫グロブリン遺伝子には、 $\alpha$ 、 $\gamma$ （IgA1およびIgA2）、 $\delta$ （IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）、 $\epsilon$ および $\mu$ の定常領域遺伝子、ならびに、無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれる。全長の免疫グロブリン「軽鎖」（約25KDaまたは214個のアミノ酸）は、NH<sub>2</sub>末端における可変領域遺伝子（約110個のアミノ酸）と、COOH末端におけるまたはの定常領域遺伝子とによってコードされる。全長の免疫グロブリン「重鎖」（約50KDaまたは446個のアミノ酸）は同様に、可変領域遺伝子（約116個のアミノ酸）と、上記の定常領域遺伝子の1つ（例えば、 $\kappa$ （これは約330個のアミノ酸をコードする））とによってコードされる。

【0055】

本明細書中で使用される「イソタイプ」は、重鎖定常領域遺伝子によってコードされる抗体クラス（例えば、IgMまたはIgG1）を示す。

【0056】

抗体の「抗原結合性フラグメント」（または単に「抗体の一部分」または「フラグメント」）の用語は、本明細書中で使用される場合、抗原（例えば、CD3）に特異的に結合する能力を保持する、全長型抗体の1つまたは複数のフラグメントを示す。抗体の「抗原結合性フラグメント」の用語に包含される結合性フラグメントの例には、次のものが含まれる：(i) Fabフラグメント（VLドメイン、VHドメイン、CLドメインおよびCH1ドメインからなる一価フラグメント）；(ii) F(ab')<sub>2</sub>フラグメント（ヒンジ領域においてジスルフィド架橋により連結された2つのFabフラグメントを含む二価フラグメント）；(iii) VHドメインおよびCH1ドメインからなるFdフラグメント；(iv) 抗体の一方だけのアームのVLドメインおよびVHドメインからなるFvフラグメント；(v) dAbフラグメント（Ward et al. (1989)、Nature、341:544-546）、これはVHドメインからなる；および(vi) 単離された相補性決定領域(CDR)。さらに、Fvフラグメントの2つのドメイン（VLおよびVH）は別個の遺伝子によってコードされるが、Fvフラグメントの2つのドメイン（VLおよびVH）は、VL領域およびVH領域が対形成して、一価の分子（これは単鎖Fv（scFv）として知られている）を形成する一本のタンパク質鎖として作製することを可能にする合成リンカーによって組換え方法を使用してつなぐことができる（例えば、Bird et al. (1988)、Science、242:423-26；及びHuston et al. (1988)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、85:5879-5900）。

10

20

30

40

50

83を参照のこと)。そのような単鎖抗体もまた、抗体の「抗原結合性フラグメント」の用語に包含されることが意図される。これらの抗体フラグメントは、当業者に知られている通常の技術を使用して得られ、または、フラグメントは、無傷の抗体がスクリーニングされるのと同じ様式で有用性についてスクリーニングされる。

【0057】

本明細書中に開示される配列に対して類似または相同意性が少なくとも約85%である配列)もまた本出願の一部である。いくつかの実施形態において、配列同一性は、約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上であり得る。あるいは、核酸セグメントが鎖の相補鎖に対して選択的なハイブリダイゼーション条件(例えば、非常にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件)のもとでハイブリダイゼーションするとき、実質的な同一性が存在する。核酸は、完全な細胞に、細胞溶解物に、あるいは、部分精製または実質的に精製された形態で存在し得る。

10

【0058】

2つの配列の間での「相同意性」または「配列同一性」(これらの用語は本明細書中では交換可能に使用される)の計算は下記のように行われる。配列が最適な比較目的のためにアラインメントされる(例えば、ギャップを最適なアラインメントのために第1および第2のアミノ酸配列または核酸配列の一方または両方に導入することができ、かつ、相同意性でない配列を比較目的のために無視することができる)。好ましい実施形態において、比較目的のためにアラインメントされた参照配列の長さは参照配列の長さの少なくとも30%であり、好ましくは少なくとも40%、より好ましくは少なくとも50%、さらに一層より好ましくは少なくとも60%、さらに一層より好ましくは少なくとも70%、80%、90%、100%である。その後、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置におけるアミノ酸残基またはヌクレオチドが比較される。第1の配列における位置が、第2の配列における対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドによって占められるとき、分子はその位置において同一である(本明細書中で使用されるように、アミノ酸または核酸の「同一性」はアミノ酸または核酸の「相同意性」と等しい)。2つの配列の間でのパーセント同一性は、ギャップの数を考慮に入れて、配列がともに有する同一位置の数と、2つの配列の最適なアラインメントのために導入する必要がある各ギャップの長さとの関数である。

20

【0059】

2つの配列の間での配列の比較およびパーセント同一性の決定は、数学的アルゴリズムを使用して達成することができる。好ましい実施形態において、2つのアミノ酸配列の間でのパーセント同一性が、BLOSUM62行列またはPAM250行列のいずれか、ならびに、16、14、12、10、8、6または4のギャップ加重、および、1、2、3、4、5または6の長さ加重を使用する、GCGソフトウェアパッケージ([www.gcg.com](http://www.gcg.com)において入手可能)におけるGAPプログラムに組み入れられている、NeedlemanとWunsch((1970)J. Mol. Biol., 48:444-53)のアルゴリズムを使用して決定される。さらに別の好ましい実施形態において、2つのヌクレオチド配列の間でのパーセント同一性が、NWSeapDNA.CMP行列、ならびに、40、50、60、70または80のギャップ加重、および、1、2、3、4、5または6の長さ加重を使用する、GCGソフトウェアパッケージ([www.gcg.com](http://www.gcg.com)において入手可能)におけるGAPプログラムを使用して決定される。特に好ましい1組のパラメーター(および、実施者が、どのようなパラメーターを、分子が本発明の配列同一範囲内または配列相同意性範囲内にあるかどうかを明らかにするために適用しなければならないかについて分からぬ場合に使用されるはずである1組のパラメーター)は、12のギャップペナルティー、4のギャップ伸張ペナルティー、および、5のフレームシフトギャップペナルティーを有するBLOSUM62スコア化行列である。2つのアミノ酸配列またはヌクレオチド配列の間でのパーセント同一性はまた、PAM120加重残基表、12のギャップ長さペナルティー、および、4のギャップペナルティーを使用する、ALIGNプログラム(

30

40

50

バージョン2.0)に組み入れられているMeyersとMiller((1989)CABIOS、4:11-17)のアルゴリズムを使用して決定することができる。

#### 【0060】

本明細書中で使用される用語「ストリンジェントな条件のもとでハイブリダイゼーションする」は、ハイブリダイゼーションおよび洗浄のための条件を記載する。様々なストリンジェントな条件が当業者には知られており、Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons、N.Y. (1989)、6.3.1-6.3.6)に見出され得る。水性および非水性の方法がそのような参考文献に記載されており、いずれも使用することができる。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の好ましい一例が、6X 塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)における約45°でのハイブリダイゼーション、それに続く、0.2X SSC、0.1% SDSにおける50°での1回またはそれ以上の洗浄である。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の別の一例が、6X SSCにおける約45°でのハイブリダイゼーション、それに続く、0.2X SSC、0.1% SDSにおける60°での1回またはそれ以上の洗浄である。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件のさらなる一例が、6X SSCにおける約45°でのハイブリダイゼーション、それに続く、0.2X SSC、0.1% SDSにおける65°での1回またはそれ以上の洗浄である。好ましくは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、6X SSCにおける約45°でのハイブリダイゼーション、それに続く、0.2X SSC、0.1% SDSにおける65°での1回またはそれ以上の洗浄である。特に好ましい非常にストリンジェントな条件(および、実施者が、どのような条件を、分子が本発明のハイブリダイゼーション範囲内にあるかどうかを明らかにするために適用しなければならないかについて分からぬ場合に使用されるはずである条件)は、65°での0.5Mリン酸ナトリウムかつ7% SDS、それに続く、0.2X SSCかつ1% SDSにおける65°での1回またはそれ以上の洗浄である。本発明の単離されたポリヌクレオチドは、開示されたポリヌクレオチドをコードする配列に対して同一または類似する配列を有する核酸を同定および単離するためのハイブリダイゼーションプローブおよびプライマーとして使用することができる。核酸を同定および単離するためのハイブリダイゼーション方法には、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)、サザンハイブリダイゼーション、インシトゥーハイブリダイゼーションおよびノーザンハイブリダイゼーションが含まれ、そのような様々なハイブリダイゼーション方法が当業者には広く知られている。ハイブリダイゼーション条件およびハイブリダイゼーション反応に関するさらなる開示が本明細書中に提供される。

#### 【0061】

ハイブリダイゼーション反応を種々のストリンジェンシーの条件のもとで行うことができる。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェンシーには、任意の2つの核酸分子が互いにハイブリダイゼーションする困難さが含まれる。好ましくは、それぞれのハイブリダイゼーションするポリヌクレオチドは、低下したストリンジェンシー条件のもとで、より好ましくは、ストリンジェントな条件のもとで、最も好ましくは、非常にストリンジェントな条件のもとで、その対応するポリヌクレオチドにハイブリダイゼーションする。ストリンジェンシー条件の様々な例が下記の表1に示される:非常にストリンジェントな条件は、例えば、条件A～条件Fと少なくとも同じくらいストリンジェントである;ストリンジェントな条件は、例えば、条件G～条件Lと少なくとも同じくらいストリンジェントである;低下したストリンジェンシー条件は、例えば、条件M～条件Rと少なくとも同じくらいストリンジェントである。

#### 【0062】

【表1】

表1

ストリング ンシーな条件	ポリヌクレオチド ハイブリッド	ハイブリッド 長さ(bp) <sup>1</sup>	ハイブリダイゼーション温度及び 緩衝液	洗浄の温度及び 緩衝液
A	DNA:DNA	>50	65°C; 1XSSC・または・ 42°C; 1XSSC, 50%ホルムアミド	65°C; 0.3XSSC
B	DNA:DNA	<50	T <sub>B</sub> *; 1XSSC	T <sub>B</sub> *; 1XSSC
C	DNA:RNA	>50	67°C; 1XSSC・または・ 45°C; 1XSSC, 50%ホルムアミド	67°C; 0.3XSSC
D	DNA:RNA	<50	T <sub>D</sub> *; 1XSSC	T <sub>D</sub> *; 1XSSC
E	RNA:RNA	>50	70°C; 1XSSC・または・ 50°C; 1XSSC, 50%ホルムアミド	70°C; 0.3XSSC
F	RNA:RNA	<50	T <sub>F</sub> *; 1XSSC	T <sub>F</sub> *; 1XSSC
G	DNA:DNA	>50	65°C; 4XSSC・または・ 42°C; 4XSSC, 50%ホルムアミド	65°C; 1XSSC
H	DNA:DNA	<50	T <sub>H</sub> *; 4XSSC	T <sub>H</sub> *; 4XSSC
I	DNA:RNA	>50	67°C; 4XSSC・または・ 45°C; 4XSSC, 50%ホルムアミド	67°C; 1XSSC
J	DNA:RNA	<50	T <sub>J</sub> *; 4XSSC	T <sub>J</sub> *; 4XSSC
K	RNA:RNA	>50	70°C; 4XSSC・または・ 50°C; 4XSSC, 50%ホルムアミド	67°C; 1XSSC
L	RNA:RNA	<50	T <sub>L</sub> *; 2XSSC	T <sub>L</sub> *; 2XSSC
M	DNA:DNA	>50	50°C; 4XSSC・または・ 40°C; 6XSSC, 50%ホルムアミド	50°C; 2XSSC
N	DNA:DNA	<50	T <sub>N</sub> *; 6XSSC	T <sub>N</sub> *; 6XSSC
O	DNA:RNA	>50	55°C; 4XSSC・または・ 42°C; 6XSSC, 50%ホルムアミド	55°C; 2XSSC
P	DNA:RNA	<50	T <sub>P</sub> *; 6XSSC	T <sub>P</sub> *; 6XSSC
Q	RNA:RNA	>50	60°C; 4XSSC・または・ 45°C; 6XSSC, 50%ホルムアミド	60°C; 2XSSC
R	RNA:RNA	<50	T <sub>R</sub> *; 4XSSC	T <sub>R</sub> *; 4XSSC

【0063】

<sup>1</sup>ハイブリッドの長さは、ハイブリダイゼーションしているポリヌクレオチドのハイブリダイゼーションした領域について予想される長さである。ポリヌクレオチドを未知配列の標的ポリヌクレオチドにハイブリダイゼーションさせるとき、ハイブリッドの長さは、ハイブリダイゼーションしているポリヌクレオチドの長さであることが仮定される。既知配列のポリヌクレオチドがハイブリダイゼーションするとき、ハイブリッドの長さは、ポリヌクレオチドの配列をアラインメントし、最適な配列相補性の領域を特定することによって決定することができる。

<sup>2</sup>S S P E ( 1 x S S P E は、 0 . 1 5 M N a C l 、 1 0 m M N a H<sub>2</sub>P O<sub>4</sub> および 1 . 2 5 m M E D T A ( p H 7 . 4 ) である ) を、ハイブリダイゼーション緩衝液および洗浄緩衝液において S S C ( 1 x S S C は 0 . 1 5 M N a C l および 1 5 m M クエ

10

20

30

40

50

ン酸ナトリウムである)の代わりに使用することができる; 洗浄が、ハイブリダイゼーションが完了した後、15分間行われる。

$T_B^* - T_R^*$ : 長さが50塩基対未満であることが予想されるハイブリッドについてのハイブリダイゼーション温度は、ハイブリッドの融解温度( $T_m$ )よりも5~10低くなければならぬ、この場合、 $T_m$ は下記の式に従って決定される。長さが18塩基対未満であるハイブリッドについては、 $T_m$ ( ) = 2 (A塩基 + T塩基の数) + 4 (G塩基 + C塩基の数)。長さが18塩基対~49塩基対のハイブリッドについては、 $T_m$ ( ) = 81.5 + 16.6 (log<sub>10</sub>Na<sup>+</sup>) + 0.41 (%G + C) - (600/N)であり、式中、Nはハイブリッドにおける塩基数であり、Na<sup>+</sup>はハイブリダイゼーション緩衝液におけるナトリウムイオンの濃度である(1X SSCについてはNa<sup>+</sup> = 0.165M)。

ポリヌクレオチドのハイブリダイゼーションについてのストリングエンサー条件のさらなる例が、Sambrook et al, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, chs 9 & 11 (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989), and, Ausubel et al, eds, Current Protocols in Molecular Biology, sects 2.10 & 6.3-6.4 (John Wiley & Sons, Inc. (1995)に提供される(これらは参照して本明細書中に組み込まれる)。

#### 【0064】

本発明の単離されたポリヌクレオチドは、開示されたポリヌクレオチドの対立遺伝子変異体をコードする配列を有するDNAを同定および単離するためのハイブリダイゼーションプローブおよびプライマーとして使用することができる。対立遺伝子変異体は、開示されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドと同一であるか、または、開示されたポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドに対する著しい類似性を有するポリペプチドをコードする、開示されたポリヌクレオチドの天然に存在する代わりの形態である。好ましくは、対立遺伝子変異体は、開示されたポリヌクレオチドとの少なくとも90%の配列同一性(より好ましくは、少なくとも95%の同一性、最も好ましくは、少なくとも99%の同一性)を有する。

#### 【0065】

本発明の単離されたポリヌクレオチドはまた、開示されたポリヌクレオチドと相同的なポリペプチドをコードする配列を有するDNAを同定および単離するためのハイブリダイゼーションプローブおよびプライマーとして使用することができる。このようなホモログは、開示されたポリペプチドおよびポリヌクレオチドの生物種とは異なる生物種から単離されたポリヌクレオチドおよびポリペプチドであるか、または、同じ生物種において単離され、しかし、開示されたポリヌクレオチドおよびポリペプチドに対する著しい配列類似性を有するポリヌクレオチドおよびポリペプチドである。好ましくは、ポリヌクレオチドホモログは、開示されたポリヌクレオチドとの少なくとも50%の配列同一性(より好ましくは、少なくとも75%の同一性、最も好ましくは、少なくとも90%の同一性)を有し、これに対して、ポリペプチドホモログは、開示されたポリペプチドとの少なくとも30%の配列同一性(より好ましくは、少なくとも45%の同一性、最も好ましくは、少なくとも60%の同一性)を有する。好ましくは、開示されたポリヌクレオチドおよびポリペプチドのホモログは、哺乳動物種から単離されたポリヌクレオチドおよびポリペプチドである。

#### 【0066】

本発明の単離されたポリヌクレオチドはまた、本発明のポリペプチドを発現する細胞および組織、ならびに、本発明のポリペプチドが発現される条件を特定するためのハイブリダイゼーションプローブおよびプライマーとして使用することができる。

#### 【0067】

本発明のIL-21/IL-21Rアンタゴニストは、その機能に対する実質的な影響を有しないさらなる保存的アミノ酸置換または非必須アミノ酸置換を有する場合がある。

10

20

30

40

50

「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似する側鎖を有するアミノ酸残基により置換される置換である。類似する側鎖を有するアミノ酸残基の様々なファミリーがこの分野では定義されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電の極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、分岐側鎖を有するアミノ酸（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）、および、芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が含まれる。

10

## 【0068】

本明細書中で使用される用語「組換え宿主細胞」（または単に「宿主細胞」）は、組換え発現ベクターが導入されている細胞を示すことが意図される。そのような用語は、問題としている特定の細胞だけでなく、そのような細胞の子孫もまた示すことが意図されることを理解しなければならない。特定の改変が、変異または環境的影響のいずれかのために後の世代において生じることがあるので、そのような子孫は、実際には、親細胞と同一でない場合があり、しかし、本明細書中で使用される用語「宿主細胞」の範囲に依然として含まれる。

## 【0069】

## IL-21 / IL-21R アンタゴニスト

20

1つの実施形態において、IL-21R / MU-1 ポリペプチドまたはその活性なフラグメントは第2の成分に融合することができ、例えば、免疫グロブリンまたはそのフラグメント（例えば、そのFc結合性フラグメント）に融合することができる。例えば、IL-21R / MU-1の可溶性形態を、免疫グロブリンのFc部分に「リンカー」配列を介して融合することができる。他の融合タンパク質（例えば、GST、LEX-AまたはMBPとの融合タンパク質など）もまた使用することができる。

## 【0070】

融合タンパク質はさらに、IL-21 フラグメントまたはIL-21R フラグメントを第2の成分につなぐリンカー配列を含む場合がある。例えば、融合タンパク質はペプチドリンカーを含むことができ、例えば、長さが約4アミノ酸～20アミノ酸（より好ましくは、5アミノ酸～10アミノ酸）のペプチドリンカーを含むことができる。1つの実施形態においてペプチドリンカーは長さが8アミノ酸である。ペプチドリンカーにおけるそれぞれのアミノ酸は、Gly、Ser、Asn、ThrおよびAlaからなる群より選択される。1つの実施形態において、ペプチドリンカーはGly-Serエレメントを含む。他の実施形態において、融合タンパク質はペプチドリンカーを含み、かつ、ペプチドリンカーは、式(Ser-Gly-Gly-Gly-Gly)<sub>Y</sub>（式中、Yは、1、2、3、4、5、6、7または8である）を有する配列を含む。

30

## 【0071】

他の実施形態において、さらなるアミノ酸配列を、発現、検出および/または単離もしくは精製を容易にするために、融合タンパク質のN末端またはC末端に付加することができる。例えば、IL-21 / IL-21R 融合タンパク質を1つまたは複数のさらなる成分（例えば、GST、His<sub>6</sub>、タグ、FLAGタグ）に連結することができる。例えば、融合タンパク質はさらに、融合タンパク質の配列がGST（すなわち、グルタチオンS-トランスフェラーゼ）配列のC末端に融合されるGST融合タンパク質に連結することができる。そのような融合タンパク質はMU-1融合タンパク質の精製を容易にすることができる。

40

## 【0072】

別の実施形態において、融合タンパク質は異種のシグナル配列（すなわち、MU-1の核酸によってコードされるポリペプチドに存在しないポリペプチド配列）をそのN末端に含む。例えば、生来的なMU-1シグナル配列を除き、別のタンパク質に由来するシグナ

50

ル配列により置き換えることができる。いくつかの宿主細胞（例えば、哺乳動物宿主細胞）では、M U - 1 の発現および／または分泌を異種のシグナル配列の使用によって増大させることができる。

#### 【 0 0 7 3 】

本発明のキメラタンパク質または融合タンパク質は標準的な組換えDNA技術によって产生させることができる。例えば、種々のポリペプチド配列をコードするDNAフラグメントが、従来の技術に従って、例えば、連結のための平滑末端化または付着末端化された末端、適切な末端をもたらすための制限酵素消化、適切な付着末端の充填、望ましくない連結を避けるためのアルカリホスファターゼ処理、および、酵素連結を用いることによって読み枠を合わせて連結される。別の実施形態では、融合遺伝子を、自動化されたDNA合成機を含む従来の技術によって合成することができる。あるいは、遺伝子フラグメントのPCR增幅を、キメラな遺伝子配列を生じさせるために続けてアニーリングおよび再增幅することができる2つの連続する遺伝子フラグメントの間での相補的な突出端を生じさせるアンカープライマーを使用して行うことができる（例えば、Ausubel et al. (eds.)、Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, 1992) を参照のこと）。さらに、融合成分（例えば、免疫グロブリン重鎖のFc領域）をコードする多くの発現ベクターが市販されている。M U - 1 をコードする核酸を、融合成分が免疫グロブリンタンパク質に読み枠を合わせて連結されるようにそのような発現ベクターにクローニングすることができる。いくつかの実施形態において、M U - 1 融合ポリペプチドはオリゴマー（例えば、二量体または三量体など）として存在する。第1のポリペプチド、および／または、第1のポリペプチドをコードする核酸を、この分野で知られている方法を使用して構築することができる。

10

20

30

#### 【 0 0 7 4 】

いくつかの実施形態において、M U - 1 ポリペプチド成分が、IL - 2 1 に対するM U - 1 ポリペプチドのより大きな親和性結合（非変異の配列と比較して）をもたらす変異を天然に存在するM U - 1 配列（野生型）において有する変異M U - 1 ポリペプチドとして提供される。

#### 【 0 0 7 5 】

いくつかの実施形態において、M U - 1 ポリペプチド成分が、タンパク質分解に対してより抵抗性（非変異の配列と比較して）のM U - 1 配列をもたらす変異を天然に存在するM U - 1 配列（野生型）において有する変異M U - 1 ポリペプチドとして提供される。いくつかの実施形態において、第1のポリペプチドは全長のM U - 1 ポリペプチドを含む。あるいは、第1のポリペプチドは全長でないM U - 1 ポリペプチドを含む。

30

#### 【 0 0 7 6 】

融合タンパク質に含めることができるシグナルペプチドはM P L L L L L L L P S P L H P（配列番号21）である。所望されるならば、1個または複数個のアミノ酸をさらに、M U - 1 成分を含む第1のポリペプチド成分と、第2のポリペプチド成分との間に挿入することができる。

#### 【 0 0 7 7 】

第2のポリペプチドは好ましくは可溶性である。いくつかの実施形態において、第2のポリペプチドは、連結されたポリペプチドの半減期（例えば、血清半減期）を高める。いくつかの実施形態において、第2のポリペプチドは、融合ポリペプチドと第2のM U - 1 ポリペプチドとの会合を容易にする配列を含む。好ましい実施形態において、第2のポリペプチドは少なくとも免疫グロブリンポリペプチドの領域を含む。様々な免疫グロブリン融合ポリペプチドがこの分野では知られており、例えば、米国特許第5,516,964号；同第5,225,538号、同第5,428,130号、同第5,514,582号、同第5,714,147号および同第5,455,165号に記載される。

40

#### 【 0 0 7 8 】

いくつかの実施形態において、第2のポリペプチドは全長の免疫グロブリンポリペプチドを含む。あるいは、第2のポリペプチドは、全長でない免疫グロブリンポリペプチド（

50

例えば、重鎖、軽鎖、F<sub>ab</sub>、F<sub>ab<sub>2</sub></sub>、F<sub>v</sub>またはF<sub>c</sub>）を含む。好ましくは、第2のポリペプチドは免疫グロブリンポリペプチドの重鎖を含む。より好ましくは、第2のポリペプチドは免疫グロブリンポリペプチドのF<sub>c</sub>領域を含む。

【0079】

本発明の別の態様において、第2のポリペプチドは、野生型免疫グロブリン重鎖のF<sub>c</sub>領域のエフェクター機能より少ないエフェクター機能を有する。F<sub>c</sub>のエフェクター機能には、例えば、F<sub>c</sub>受容体との結合、補体の固定化、および、T細胞枯渇化活性が含まれる（例えば、米国特許第6,136,310号を参照のこと）。T細胞枯渇化活性、F<sub>c</sub>のエフェクター機能、および、抗体の安定性をアッセイするための様々な方法がこの分野では知られている。1つの実施形態において、第2のポリペプチドは、F<sub>c</sub>受容体に対する親和性が低いか、または、全くない。代わりの実施形態において、第2のポリペプチドは、補体タンパク質C1qに対する親和性が低いか、または、全くない。

10

【0080】

好ましい第2のポリペプチド配列は配列番号17のアミノ酸配列を含む。この配列はF<sub>c</sub>領域を含む。下線部のアミノ酸は、野生型免疫グロブリン配列の対応する位置において見出されるアミノ酸とは異なる：

【0081】

【表2】

20

HTCPPCPAPEALGAPSVFLLPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN  
AK  
TKPREEQYNSTYRVRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPPIEKTISKAKGQP  
REPQVYTLPP  
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDGSSFLYSKLTVDKSRWQ  
QGNVFSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号17)

【0082】

本発明の方法において使用することができるアンタゴニスト性融合タンパク質の例が図7～図15に示される。1つの実施形態において、融合タンパク質は、例えば、配列番号23、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号33、配列番号35、配列番号37または配列番号39から選ばれるアミノ酸配列、あるいは、それらに対する同一性が少なくとも85%、90%、95%、98%またはそれ以上である配列を含む。他の実施形態において、融合タンパク質は、例えば、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号32、配列番号34、配列番号36または配列番号38から選ばれるヌクレオチド配列、あるいは、それらに対する同一性が少なくとも85%、90%、95%、98%またはそれ以上である配列によってコードされるアミノ酸配列を含む。好ましい融合タンパク質は、配列番号25または配列番号29として示されるアミノ酸配列（それぞれ、図8A～図8Cおよび図10A～図10C）、あるいは、それらに対する同一性が少なくとも85%、90%、95%、98%またはそれ以上である配列を有する。他の実施形態において、融合タンパク質は、例えば、配列番号24または配列番号28から選ばれるヌクレオチド配列（それぞれ、図8A～図8Cおよび図10A～図10C）、あるいは、それらに対する同一性が少なくとも85%、90%、95%、98%またはそれ以上である配列によってコードされるアミノ酸配列を含む。最も好ましくは、融合タンパク質は、配列番号29として示されるアミノ酸配列を有するか、または、配列番号28として示されるヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列を有する（図10A～図10C）。

30

【0083】

他の実施形態において、IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、IL-21またはIL-21R（好ましくは、哺乳動物（例えば、ヒトまたはマウス）のIL-21またはIL-21R）に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントである。

40

【0084】

本発明のMU-1タンパク質はまた、MU-1タンパク質と特異的に反応し、かつ、リガンドが受容体に結合することを阻害し得るポリクローナル抗体およびモノクローナル抗

50

体を得るように動物を免疫化するために使用することができる。そのような抗体は、完全なM U - 1を免疫原として使用して得ることができ、または、M U - 1のフラグメントを使用することによって得ることができる。M U - 1のより小さいフラグメントもまた、動物を免疫化するために使用することができる。ペプチド免疫原はさらに、システイン残基をカルボキシル末端に含有することができ、ハプテン（例えば、キーホールリンペットヘモシアニン（K L H）など）にコンジュゲート化することができる。さらなるペプチド免疫原を、チロシン残基を硫酸化チロシン残基により置換することによって作製することができる。そのようなペプチドを合成するための様々な方法がこの分野では広く知られている。

#### 【0085】

M U - 1タンパク質に結合する中和抗体または非中和抗体（好ましくは、モノクローナル抗体）もまた、上記で記載された状態の処置において有用であり得る。これらの中和モノクローナル抗体は、リガンドがM U - 1受容体鎖に結合することを阻止することができる。

#### 【0086】

本発明はさらに、I L - 2 1またはI L - 2 1 Rと特異的に反応する抗体を含む組成物を提供する。

#### 【0087】

I L - 2 1またはI L - 2 1 Rに向けられたヒトモノクローナル抗体（m A b）を、マウス系ではなく、ヒト免疫グロブリン遺伝子を有するトランスジェニックマウスを使用して作製することができる。目的とする抗原により免疫化されたこのようなトランスジェニックマウスから得られる脾臓細胞が、ヒトタンパク質に由来するエピトープについての特異的な親和性を有するヒトm A bを分泌するハイブリドーマを作製するために使用される（例えば、Wood et al.、国際特許出願WO 91/00906；Kucherlapati et al.、国際特許出願WO 91/10741；Lonberg et al.、国際特許出願WO 92/03917；Lonberg et al. (1994)、Nature、368:856-59; Green et al. (1994)、Nat. Genet.、7:13-21; Morrison et al. (1994)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、81:6851-55; Bruggeman et al. (1993)、Year Immunol.、7:33-40; Tuailion et al. (1993)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、90:3720-24; Bruggeman et al. (1991)、Eur. J. Immunol.、21:1323-1326を参照のこと）。

#### 【0088】

モノクローナル抗体はまた、組換えD N A技術の分野の当業者に知られている他の方法によって作製することができる。代わりの方法が「組換え抗体ディスプレー」法と呼ばれており、特定の抗原特異性を有する抗体フラグメントを同定および単離するために開発されており、モノクローナル抗体を產生させるために利用することができる。この方法はこの分野で広く知られている。動物を免疫原により免疫化した後、得られたB細胞プールの抗体レパートリーがクローニングされる。オリゴマーブライマーの混合物およびP C Rを使用することによって免疫グロブリン分子の多様な集団の可変領域のD N A配列を得るための様々な方法が、一般に知られている。例えば、5'リーダー（シグナルペプチド）配列および/またはフレームワーク1（F R 1）配列に対応する混合オリゴヌクレオチドプライマー、ならびに、保存された3'定常領域プライマーに対するプライマーを、数多くのマウス抗体に由来する重鎖可変領域および軽鎖可変領域のP C R增幅のために使用することができる（Larrick et al. (1991)、Biotechniques、11:152-56）。類似する戦略もまた、ヒトの重鎖可変領域および軽鎖可変領域をヒト抗体から增幅するために使用することができる（Larrick et al. (1991)、Methods: Companion to Methods in Enzymology、2:106-10）。

#### 【0089】

キメラ抗体（キメラな免疫グロブリン鎖を含む）を、この分野で知られている組換えD N A技術によって產生させることができる。例えば、マウス（または他の生物種）のモノ

10

20

30

40

50

クローナル抗体分子の Fc 定常領域をコードする遺伝子が、マウス Fc をコードする領域を除くために制限酵素で消化され、そして、ヒト Fc 定常領域をコードする遺伝子の同等部分が代わりに使用される（例えば、Robinson et al.、国際特許出願 PCT / US 86 / 02269；Akira et al.、欧州特許出願 184,187；Taniguchi、欧州特許出願 171,496；Morrison et al.、欧州特許出願 173,494；Neuberg et al.、国際特許出願公開 WO 86 / 01533；Cabilly et al.、米国特許第 4,816,567 号；Cabilly et al.、欧州特許出願 125,023；Better et al. (1988)、Science、240:1041-43; Liu et al. (1987)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、84:3439-43; Liu et al. (1987)、J. Immunol.、139:3521-26; Sun et al. (1987)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、84:214-18; Nishimura et al. (1987)、Canc. Res.、47:999-1005; Wood et al. (1985)、Nature、314:446-49; Shaw et al. (1988)、J. Natl. Cancer Inst.、80:1553-59 を参照のこと）。  
10

## 【0090】

抗体鎖または免疫グロブリン鎖は、この分野で知られている方法によってヒト化することができる。ヒト化抗体（ヒト化免疫グロブリン鎖を含む）は、抗原結合に直接には関与しない Fv 可変領域の配列をヒト Fv 可変領域に由来する同等の配列で置換することによって作製することができる。ヒト化抗体を作製するための様々な一般的な方法が、Morris (1985)、Science、229:1202-07; Oi et al. (1986)、BioTechniques、4:214；ならびに Queen et al.、米国特許第 5,585,089 号、同第 5,693,761 号および同第 5,693,762 号（これらのすべての内容が本明細書により参照して組み込まれる）によって提供される。これらの方法では、重鎖または軽鎖の少なくとも 1 つに由来する免疫グロブリン Fv 可変領域のすべてまたは一部をコードする核酸配列を単離、操作および発現することができる。そのような核酸の供給源は当業者には広く知られており、例えば、所定の標的に対する抗体を産生するハイブリドーマから得ることができる。その後、ヒト化抗体をコードする組換え DNA またはそのフラグメントを適切な発現ベクターにクローン化することができる。  
20

## 【0091】

ヒト化または CDR グラフト化された抗体分子または免疫グロブリンを、免疫グロブリン鎖の 1 つの CDR、2 つの CDR またはすべての CDR を置き換えることができる CDR グラフト化または CDR 置換によって産生することができる（例えば、米国特許第 5,225,539 号；Jones et al. (1986)、Nature、321:552-25; Verhoeyen et al. (1988)、Science、239:1534; Beidler et al. (1988)、J. Immunol.、141:4053-60；Winter、米国特許第 5,225,539 号を参照のこと。これらのすべての内容が本明細書により参照して組み込まれる）。Winter は、本発明のヒト化抗体を調製するために使用することができる CDR グラフト化方法を記載する（英国特許出願 GB 2188638 A (1987 年 3 月 26 日出願)；Winter、米国特許第 5,225,539 号、これらの内容は本明細書により参照して組み込まれる）。特定のヒト抗体の CDR のすべてを非ヒト CDR の少なくとも一部分と置き換えることができ、または、複数の CDR の一部のみを非ヒト CDR と置き換えることができる。必要なのは、ヒト化抗体が所定の抗原に結合するために要求される数の CDR を置き換えることだけである。  
30

## 【0092】

例えば、抗体の他の部分（例えば、定常領域）を欠失、付加または置換することによって改変されているモノクローナル抗体、キメラ抗体およびヒト化抗体もまた本発明の範囲内である。例えば、抗体は、(i) 定常領域を欠失することによって；(ii) 定常領域を別の定常領域（例えば、抗体の半減期、安定性または親和性を増大させるために意図された定常領域、あるいは、別の生物種または抗体クラスに由来する定常領域）で置換することによって；または (iii) 定常領域における 1 個または複数個のアミノ酸を、例えば、とりわけ、グリコシル化部位の数、エフェクター細胞機能、Fc 受容体 (FcR) との結合、補体の固定化を変化させるために改変することによって改変することができる。  
40

## 【0093】

10

20

30

40

50

抗体の定常領域を変化させるための様々な方法がこの分野では知られている。変化した機能（例えば、エフェクターリガンド（例えば、細胞上の FcR など）または補体の C1 成分に対する変化した親和性）を有する抗体を、抗体の定常部分における少なくとも 1 個のアミノ酸残基を異なる残基で置換することによって作製することができる（例えば、E.P. 388, 151 A1、米国特許第 5,624,821 号および米国特許第 5,648,260 号を参照のこと。これらのすべての内容が本明細書により参照して組み込まれる）。マウスまたは他の生物種の免疫グロブリンに適用された場合、これらの機能を低下または排除する類似するタイプの変化が記載され得る。

## 【0094】

例えば、指定された残基を、適切な機能性をその側鎖において有する残基で置換することによって、あるいは、電荷を有する官能基（例えば、グルタミン酸またはアスパラギン酸など）、または、おそらくは芳香族の非極性残基（例えば、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファンまたはアラニンなど）を導入することによって FcR（例えば、Fc ガンマ R1）についての抗体（例えば、IgG、例えば、ヒト IgG など）の Fc 領域の親和性、または、C1q との結合のための Fc 領域の親和性を変化させることが可能である（例えば、米国特許第 5,624,821 号を参照のこと）。

10

## 【0095】

IL-21 ポリペプチドのアミノ酸配列が公開により知られている。例えば、ヒト IL-21 のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が GENBANK（登録商標）アクセション番号 X\_011082 で入手可能である。ヒト IL-21 の開示されたヌクレオチド配列を下記に示す：

20

## 【0096】

## 【表 3】

```

1  gctgaagtga aaacgagacc aaggcttagc tctactgttg gtacttatga gatccagtc
61 tggcaatcgtc gagaggatgt tcatactgtct gatggtcatac ttcttggggc cactgggtcca
121 caaatcaagc tcccaagggtc aagatcgcca catgatttgc atgcgtcaac ttatagatat
181 tggatgtatgc ctggaaaaattt atgtgtatgc ctgggtccct gaatttctgc cagtcggcaga
241 agatgttagag acaaactgtg agtggtcagc tttttctgc tttcagaagg cccaaactaaa
301 gtcagcaat acaggaaaca atgaaaggat aatcaatgtt tcaattaaaa agtggaaagag
361 gaaaccacat tccacaaatgc caggagaag acagaaacac agactaacat gccccatgc
421 tgattcttat gagaaaaaac cacccaaaga attccctagaa agattcaaat cacttctcc
481 aaagatgatt catcagcatac tgccctctag aacacacggg aatggaaagatt cctgaggatc
541 taacttgcag ttggacacta tggtacatac tctaaatatac tagtgaaagt catttttttg
601 tatttcaatggggag (配列番号 18)

```

30

## 【0097】

開示されたヒト IL-21 ポリペプチドのアミノ酸配列を下記に示す：

## 【0098】

## 【表 4】

```

MRSSPGNMRERIVICLMVIFLGLTLVHKSSSSQQDRHMTRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPED
VETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIIKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKP
PKEFLERFKSLLQKMIHQHLSRTHGSEDS (配列番号 19)

```

40

## 【0099】

本発明はまた、非常にストリージェントな条件（例えば、6.5% の 0.1X SSC のもとで、配列番号 1、配列番号 22、配列番号 24、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 34、配列番号 36 または配列番号 38 に示されるヌクレオチド配列にハイブリダイゼーションする核酸を包含する。MU-1 タンパク質または MU-1 融合タンパク質をコードし、しかし、遺伝暗号の縮重性によって、配列番号 1、配列番号 22、配列番号 24、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 34、配列番号 36 または配列番号 38 に示されるヌクレオチド配列とは異なる単離されたポリヌクレオチドもまた本発明によって包含される。点変異によつ

50

て、または、誘導された改変によって引き起こされる、配列番号 1、配列番号 22、配列番号 24、配列番号 26、配列番号 28、配列番号 30、配列番号 32、配列番号 34、配列番号 36 または配列番号 38 に示されるようなヌクレオチド配列における変異もまた本発明に含まれる。

## 【0100】

本発明の単離されたポリヌクレオチドは、M U - 1 タンパク質を組換えにより產生させるために、発現制御配列（例えば、Kaufmann et al. (1991)、Nucleic Acids Res.、19:4 485-90 に開示される p M T 2 発現ベクターまたは p E D 発現ベクターなど）に機能的に連結することができる。多くの好適な発現制御配列がこの分野では知られている。組換えタンパク質を発現させる一般的な方法もまた知られており、Kaufman(1990)、Methods in Enzymology、185:537-66 に例示される。本明細書中で定義される「機能的に連結された（される）」は、連結されたポリヌクレオチド / 発現制御配列により形質転換（トランスフェクション）されている宿主細胞によって M U - 1 タンパク質が発現されるような方法で、本発明の単離されたポリヌクレオチドと、発現制御配列との間での共有結合性の結合を形成するように酵素的または化学的に連結された（される）ことを意味する。

## 【0101】

本明細書中で使用される用語「ベクター」は、連結されている別の核酸を輸送することができる核酸分子を示すことが意図される。1つのタイプのベクターが「プラスミド」であり、これは、さらなるDNAセグメントを連結することができる環状の二本鎖DNAループを示す。別のタイプのベクターが、さらなるDNAセグメントをウイルスゲノムの中に連結することができるウイルスベクターである。ある種のベクターは、ベクターが導入される宿主細胞における自律的複製が可能である（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクター、および、エピソーム哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞に導入したときに宿主細胞のゲノムに組み込ませることができ、それにより、宿主ゲノムと一緒に複製する。さらに、ある種のベクターは、ベクターが機能的に連結されている遺伝子の発現を行わせることができる。そのようなベクターは本明細書中では「組換え発現ベクター」（または単に「発現ベクター」）として示される。一般に、組換えDNA技術において有用な発現ベクターは、多くの場合、プラスミドの形態である。プラスミドがベクターの最も一般的に使用されている形態であるので、本明細書では、「プラスミド」および「ベクター」が交換可能に使用されることがある。しかしながら、本発明は、同等の機能を果たす発現ベクターのそのような他の形体（例えば、ウイルスベクター（例えば、複製欠陥レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ関連ウイルス）など）を包含することが意図される。

## 【0102】

用語「調節配列」は、抗体鎖の遺伝子の転写または翻訳を制御するプロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を包含することが意図される。そのような調節配列が、例えば、Goeddel(1990)、Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185(Academic Press、San Diego、CA)に記載される。調節配列の選択をはじめとする発現ベクターの設計は、形質転換される宿主細胞の選択、所望されるタンパク質の発現レベルなどのような要因に依存し得ることが当業者によって理解される。哺乳動物宿主細胞での発現のための好ましい調節配列には、哺乳動物細胞における高レベルのタンパク質発現を行わせるウイルスエレメント、例えば、F F - 1 a プロモーター由来のプロモーターおよび / またはエンハンサーならびに B G H ポリ A、サイトメガロウイルス (CMV)（例えば、CMVプロモーター / エンハンサーなど）、シミアンウイルス 40 (SV40)（例えば、SV40プロモーター / エンハンサーなど）、アデノウイルス（例えば、アデノウイルスの主要後期プロモーター (AdMLP)）、ならびに、ポリオーマが含まれる。ウイルス調節エレメントのさらなる記載およびその配列については、例えば、米国特許第 5,168,062 号、同第 4,510,245 号、同第 4,968,615 号を参照のこと。

## 【0103】

10

20

30

40

50

本発明の組換え発現ベクターは、さらなる配列（例えば、宿主細胞におけるベクターの複製を調節する配列（例えば、複製起点）、および、選択マーカー遺伝子など）を有することができる。選択マーカー遺伝子は、ベクターが導入されている宿主細胞の選択を容易にする（例えば、米国特許第4,399,216号、同第4,634,665号、同第5,179,017号を参照のこと）。例えば、典型的には、選択マーカー遺伝子は、薬物（例えば、G418、ヒグロマイシンまたはメトトレキサートなど）に対する抵抗性を、ベクターが導入されている宿主細胞に付与する。好ましい選択マーカー遺伝子には、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR）遺伝子（メトトレキサート選択／増幅とともにdhfrの宿主細胞における使用のために）、および、neo遺伝子（G418選択のために）が含まれる。

10

#### 【0104】

数多くのタイプの細胞が、MU-1タンパク質またはその融合タンパク質を発現させるための好適な宿主細胞として作用し得る。機能的なMU-1タンパク質を発現させることができ任意の細胞タイプを使用することができる。好適な哺乳動物宿主細胞には、例えば、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、ヒト腎臓293細胞、ヒト上皮A431細胞、ヒトColo205細胞、3T3細胞、CV-1細胞、他の形質転換された靈長類細胞株、正常な二倍体細胞、初代組織のインビトロ培養に由来する細胞系統、初代外植片、HeLa細胞、マウスL細胞、BHK細胞、HL-60細胞、U937細胞、HAK細胞、Rat2細胞、Baf3細胞、32D細胞、FDCP-1細胞、PC12細胞、M1×細胞またはC2C12細胞が含まれる。

20

#### 【0105】

MU-1タンパク質またはその融合タンパク質はまた、本発明の単離されたポリヌクレオチドを1つまたは複数の昆虫発現ベクターにおける好適な制御配列に機能的に連結し、かつ、昆虫発現システムを用いることによって産生することができる。バキュロウイルス／昆虫細胞発現システムのための材料および方法が、例えば、Invitrogen（San Diego、CA）からキット形態（例えば、MAXBAC（登録商標）キット）で市販されており、そのような方法は、Summers and Smith、Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No. 1555(1987)（これは参考して本明細書中に組み込まれる）に記載されるようにこの分野では広く知られている。MU-1タンパク質の可溶性形態もまた、上記で記載されたように、適切な単離されたポリヌクレオチドを使用して昆虫細胞において作成させることができる。

30

#### 【0106】

あるいは、MU-1タンパク質またはその融合タンパク質を下等真核生物（例えば、酵母など）または原核生物（例えば、細菌など）において産生させることができる。好適な酵母株には、Saccharomyces cerevisiae、Schizosaccharomyces pombe、Kluyveromyces属の菌株、Candida属、または、異種のタンパク質を発現させることができる任意の他の酵母株が含まれる。好適な細菌株には、大腸菌（Escherichia coli）、枯草菌（Bacillus subtilis）、ネズミチフス菌（Salmonella typhimurium）、または、異種のタンパク質を発現させることができる任意の細菌株が含まれる。

40

#### 【0107】

細菌における発現は、組換えタンパク質を取り込む封入体の形成をもたらす場合がある。従って、組換えタンパク質のリフォールディングが、活性体またはより活性なものを産生させるために要求される場合がある。正しく折り畳まれた異種タンパク質を細菌封入体から得るためのいくつかの方法がこの分野では知られている。これらの方法では一般に、タンパク質を封入体から可溶化し、その後、カオトロピック剤を使用してタンパク質を完全に変性することが伴う。システイン残基がタンパク質の一次アミノ酸配列に存在するとき、ジスルフィド結合の正しい形成を可能にする環境（レドックス系）においてリフォールディングを達成する多くの場合には必要である。リフォールディングの一般的な

50

方法が、Kohno(1990)、Meth. Enzym.、185、187-95に開示される；欧州特許0433225および米国特許第5,399,677号は他の適切な方法を記載する。

#### 【0108】

MU-1タンパク質またはその融合タンパク質はまた、トランスジェニック動物の産物として発現させることができ、例えば、MU-1タンパク質またはその融合タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列を含有する体細胞または生殖細胞によって特徴づけられる遺伝子組み換えされたウシ、ヤギ、ブタまたはヒツジの乳汁の成分として発現させることができる。

#### 【0109】

MU-1タンパク質またはその融合タンパク質は、形質転換された宿主細胞を、所望のタンパク質を発現させるために必要な培養条件のもとで成長させることによって調製することができる。得られる発現タンパク質は、その後、培養培地または細胞抽出物から精製することができる。MU-1タンパク質またはその融合タンパク質の可溶性形態を培養培地から精製することができる。本発明のMU-1タンパク質の膜結合形態を、総膜画分を発現細胞から調製し、非イオン性界面活性剤（例えば、TRITON（登録商標）X-100など）を用いて膜を抽出することによって精製することができる。

#### 【0110】

MU-1タンパク質またはMU-1融合タンパク質は、当業者に知られている方法を使用して精製することができる。例えば、本発明のMU-1タンパク質は、市販のタンパク質濃縮フィルター（例えば、AMICON（登録商標）限外ろ過ユニットまたはPELLEICON（登録商標）限外ろ過ユニット（Millipore、Billerica、MA））を使用して濃縮することができる。濃縮工程の後、濃縮液を精製マトリックス（例えば、ゲルろ過媒体など）に加えることができる。あるいは、アニオン交換樹脂を用いることができる（例えば、ペンダント状のジエチルアミノエチル（DEAE）基またはポリエチレンイミン（PEI）基を有するマトリックスまたは基質）。マトリックスは、タンパク質精製において一般に用いられているアクリルアミド、アガロース、デキストラン、セルロースまたは他のタイプが可能である。あるいは、カチオン交換工程を用いることができる。好適なカチオン交換体には、スルホプロピル基またはカルボキシメチル基を含む様々な不溶性マトリックスが含まれる。スルホプロピル基が好ましい（例えば、S-SEPHAROSE（登録商標）カラム）。培養上清からのMU-1タンパク質または融合タンパク質の精製ではまた、コンカナバリンA-アガロース、ヘパリン-TOYOPEARL（登録商標）またはCibacronブルー3GA-SEPHAROSE（登録商標）のような親和性樹脂でのカラム工程；フェニルエーテル、ブチルエーテルまたはプロピルエーテルのような樹脂を使用する疎水性相互作用クロマトグラフィーによるカラム工程；あるいは、免疫アフィニティークロマトグラフィーによるカラム工程を1回または複数回含むことができる。最後に、疎水性RP-HPLC媒体（例えば、ペンダント状のメチル基または他の脂肪族基を有するシリカゲル）を用いる1回または複数回の逆相高速液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）工程を、MU-1タンパク質をさらに精製するために用いることができる。MU-1タンパク質に対する抗体を含むアフィニティーカラムもまた、既知の方法に従って精製において使用することができる。前記精製工程の一部またはすべてはまた、様々な組合せで、または、他の既知の方法とともに、実質的に精製されている単離された組換えタンパク質を提供するために用いることができる。好ましくは、単離されたMU-1タンパク質は、他の哺乳動物タンパク質を実質的に含まないように精製される。

#### 【0111】

本発明のMU-1タンパク質またはMU-1融合タンパク質はまた、MU-1に結合することができる因子についてスクリーニングするために使用することができる。所望の結合性タンパク質（固定化されていても、または、固定化されていなくても）を使用する結合アッセイがこの分野では知られており、本発明のMU-1タンパク質を使用してこの目的のために使用することができる。純化細胞に基づくスクリーニングアッセイまたは精製タンパク質に基づく（無細胞）スクリーニングアッセイを、そのような因子を同定するた

10

20

30

40

50

めに使用することができる。例えば、M U - 1 タンパク質を精製形態でキャリアに固定化することができ、精製されたM U - 1 タンパク質に対する結合性リガンドまたは潜在的リガンドを測定することができる。

#### 【0112】

##### 医薬組成物

I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストは、医薬的に許容され得るキャリアと組み合わされたとき、医薬組成物として使用することができる。そのような組成物は、I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストおよびキャリアに加えて、この分野で広く知られている様々な希釈剤、充填剤、塩、緩衝剤、安定化剤、可溶化剤および他の物質を含有することができる。用語「医薬的に許容され得る」は、有効成分の生物学的活性の有効性を妨害しない非毒性の物質を意味する。キャリアの特徴は投与経路に依存する。

10

#### 【0113】

本発明の医薬組成物は、I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストが、他の医薬的に許容され得るキャリアに加えて、両親媒性薬剤（例えば、水溶液において存在するミセル、不溶性単層、液晶またはラメラ層として凝集形態で存在する脂質など）と組み合わされるリポソームの形態にすることができる。リポソーム配合のための好適な脂質には、限定されないが、モノグリセリド、ジグリセリド、スルファチド、リゾレシチン、リン脂質、サポニンおよび胆汁酸などが含まれる。そのようなリポソーム配合物の調製は、例えば、米国特許第4,235,871号、同第4,501,728号、同第4,837,028号および同第4,737,323号（これらのすべてが参照して本明細書中に組み込まれる）に開示されるように、この技術分野での技術レベルの範囲内である。

20

#### 【0114】

本明細書中で使用される用語「治療効果的な量」は、意味のある患者利益（例えば、そのような状態の改善、そのような状態の治癒、または、そのような状態の治癒速度の増大）を示すために十分である、医薬組成物または方法のそれぞれの有効成分の総量を意味する。単独で投与された個々の有効成分に適用されるときには、この用語はその成分単独を示す。組合せに適用されるときには、この用語は、組合せで、または連続で、または同時に投与されようとも、治療効果をもたらす有効成分の組合せ量を示す。

#### 【0115】

本発明の処置方法または使用方法を実施する際には、I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストの治療効果的な量が対象（例えば、哺乳動物（例えば、ヒト））に投与される。I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストは、本明細書中においてより詳しく記載されるように、単独または他の治療剤との組合せでのいずれかであっても、本発明の方法に従って投与することができる。1つまたは複数の薬剤と同時投与されるとき、I L - 2 1 アンタゴニストおよび/またはI L - 2 1 R アンタゴニストは、第2の薬剤と同時または連続でのいずれかで投与することができる。連続して投与されるならば、担当医により、I L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストを他の薬剤との組合せで投与する適切な順序が決定される。

30

#### 【0116】

本発明の医薬組成物において使用されるI L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストの投与、または、本発明の方法を実施するためのI L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストの投与を様々な通常的な方法（例えば、経口摂取、吸入、あるいは、皮膚注入、皮下注射または静脈内注射など）で行うことができる。患者への静脈内投与が好ましい。

40

#### 【0117】

治療効果的な量のI L - 2 1 / I L - 2 1 R アゴニストまたはI L - 2 1 / I L - 2 1 R アンタゴニストが経口投与されるとき、そのような結合性因子は、錠剤、カプセル、粉末剤、溶液またはエリキシル剤の形態である。錠剤形態で投与されるとき、本発明の医薬組成物はさらに、固体のキャリア（例えば、ゼラチンまたは補助剤など）を含有することができる。錠剤、カプセルおよび粉末剤は約5%～95%の結合性因子を含有し、好ましくは、約25%～90%の結合性因子を含有する。液体形態で投与されるとき、液体のキ

50

ヤリア（例えば、水、石油、動物起源または植物起源のオイル（例えば、ピーナッツ油、鉱油、ダイズ油またはゴマ油など）、あるいは、合成油など）を加えることができる。液体形態の医薬組成物はさらに、生理的食塩水溶液、デキストロース溶液または他の糖類溶液、あるいは、グリコール（例えば、エチレングリコール、プロピレングリコールまたはポリエチレングリコールなど）を含有することができる。液体形態で投与されるとき、医薬組成物は約0.5重量%～90重量%の結合性因子を含有し、好ましくは、約1%～50重量%の結合性因子を含有する。

【0118】

治療効果的な量のIL-21/IL-21Rアンタゴニストが、静脈内注射、皮膚注入または皮下注射により投与されるとき、結合性因子は、バイロジエンを含有しない非経口的に許容され得る水溶液の形態である。そのような非経口的に許容され得るタンパク質溶液の調製は、pH、等張性および安定性などを十分に考慮して、この技術分野での技術の範囲内である。静脈内注射、皮膚注入または皮下注射のための好ましい医薬組成物は、結合性因子に加えて、等張性ビヒクル（例えば、この分野で知られているような塩化ナトリウム注射液、リングル注射液、デキストロース注射液、デキストロースおよび塩化ナトリウムの注射液、乳酸加リングル注射液または他のビヒクルなど）を含有するはずである。本発明の医薬組成物はまた、当業者に知られている安定化剤、保存剤、緩衝剤、酸化防止剤または他の添加剤を含有することができる。

10

【0119】

本発明の医薬組成物におけるIL-21/IL-21Rアンタゴニストの量は、処置されている状態の性質および重篤度、ならびに、患者が受けたことがある以前の処置の性質に依存する。最終的には、担当医により、それぞれの個々の患者を処置するための結合性因子の量が決定される。最初に、担当医は低い用量の結合性因子を投与し、患者の治療的応答を観察する。より大きな用量の結合性因子を、最適な治療効果が患者について得られるまで投与することができ、そして、その時点で、投薬量は一般にさらには増大しない。本発明の方法を実施するために使用される様々な医薬組成物は約0.1μg/kg体重～約100mg/kg体重のIL-21/IL-21Rアンタゴニストを含有すべきであることが意図される。

20

【0120】

本発明の医薬組成物を使用する静脈内治療の継続期間は、処置されている疾患の重篤度、ならびに、それぞれの個々の患者の状態および潜在的な特異体質的応答に依存して変化する。IL-21/IL-21Rアンタゴニストの各適用の継続期間は12時間～24時間の連続した静脈内投与の範囲であることが意図される。最終的には、担当医により、本発明の医薬組成物を使用する静脈内治療の適切な継続期間が決定される。

30

【0121】

本発明のポリヌクレオチドおよびタンパク質は、本明細書中において特定される使用または生物学的活性（本明細書中に示されるアッセイに関連した活性を含む）の1つまたは複数を示すことが予想される。本発明のタンパク質について記載される使用または活性は、そのようなタンパク質の投与または使用によって、あるいは、（例えば、DNAを導入するために好適な遺伝子治療またはベクターなどでは）そのようなタンパク質をコードするポリヌクレオチドの投与または使用によって提供され得る。

40

【0122】

免疫細胞の活性を低下させるためのIL-21/IL-21Rアンタゴニストの使用  
さらに別の態様において、本発明は、免疫細胞（例えば、成熟T細胞（例えば、成熟CD8<sup>+</sup>T細胞、成熟CD4<sup>+</sup>T細胞）、成熟NK細胞、B細胞、マクロファージおよび巨核芽球）またはその集団の活性を、免疫細胞または集団の活性を阻害するために十分な量でT細胞の集団をIL-21/IL-21Rアンタゴニストと接触させることによって阻害するための方法を特徴とする。IL-21および/またはIL-21Rのアンタゴニスト（例えば、本明細書中に記載されるような融合タンパク質または中和抗体）もまた、免疫応答の阻害が所望される対象に投与することができる。このような状態または障害には、

50

例えば、自己免疫障害（例えば、関節炎障害、R A、I B D）、S L E、喘息、糸球体腎炎、乾癬、または、移植片／臓器移植（およびそれに関連した拒絶）が含まれる。

#### 【0123】

本出願人は、Fc免疫グロブリン領域に融合されたIL-21Rの細胞外ドメインを含む中和する融合タンパク質を使用することによるIL-21R活性の低下により、炎症症状がコラーゲン誘導関節炎（C I A）動物モデル（実施例7）において改善され、同様に、クローン病、潰瘍性大腸炎およびI B Dについての動物モデル（実施例9および実施例11）、移植片拒絶についての動物モデル（実施例10）、乾癬についての動物モデル（実施例11）、および、狼瘡についての動物モデル（実施例13）において改善されることを示している。IL-21RのmRNAの発現がC I Aマウスの足においてアップリギュレーションされる（実施例8）。IL-21R欠損マウスは抗原誘導による気道炎症の低下を示す（実施例12）。従って、IL-21 / IL-21Rの活性を中和するIL-21R結合性因子は、例えば、自己免疫障害（例えば、関節炎障害、R A、I B D）、S L E、糸球体腎炎、喘息、乾癬または移植片／臓器移植を含む、免疫細胞に関連する病理を処置または防止するためにインビボで免疫抑制を誘導するように使用することができる。

10

#### 【0124】

IL-21RのDNAはまた、クローン病についての染色体遺伝子座に位置づけられており、従って、クローン病および他の炎症性腸疾患を処置するためのIL-21 / IL-21Rアンタゴニストの使用についてのさらなる裏付けを提供する。

20

#### 【0125】

本発明の方法はまた、免疫細胞の活性（例えば、増殖、分化、生存）を調節（例えば、阻害）するために使用することができ、従って、様々な免疫障害を処置または防止するために使用することができる。処置または防止することができる障害の非限定的な例には、移植拒絶、自己免疫疾患（例えば、糖尿病、関節炎（R A、若年性R A、変形性関節症（O A）、乾癬性関節炎を含む）、多発性硬化症、脳脊髄炎、重症筋無力症、S L E、糸球体腎炎、自己免疫甲状腺炎、皮膚炎（アトピー性皮膚炎および湿疹性皮膚炎を含む）、乾癬および関連した皮膚障害（例えば、UV損傷に関連する状態（例えば、光による老化）、アトピー性皮膚炎、皮膚型T細胞リンパ腫（例えば、菌状息肉腫）、アレルギー性および刺激性の接触性皮膚炎、扁平苔癬、円形脱毛症、白斑、眼の瘢痕性類天疱瘡、ならびに、じんま疹など）、シェーグレン症候群、クローン病、アフタ性潰瘍、虹彩炎、潰瘍性大腸炎、脊椎関節症、強直性脊椎炎、内因性喘息、アレルギー性喘息、慢性閉塞性肺疾患（C O P D）、間質性肺線維症、皮膚エリテマトーデス、強皮症、薬物発疹、自己免疫ブドウ膜炎、アレルギー性脳脊髄炎、ヴェーゲナー肉芽腫症、肝炎、スティーヴンズ・ジョンソン症候群、特発性スブルー、グレーヴズ病、類肉腫症、肝臓線維症、原発性胆汁性肝硬変、後部ブドウ膜炎、移植片対宿主病およびアレルギー（例えば、アトピー性アレルギーなど）が含まれるが、これらに限定されない。IL-21 / IL-21Rアンタゴニストを使用して処置することができる好ましい障害には、関節炎障害（例えば、R A、若年性R A、O A、乾癬性関節炎および強直性脊椎炎（好ましくは、関節リウマチ））、多発性硬化症、I型糖尿病、狼瘡（S L E）、I B D（クローン病、潰瘍性大腸炎）、喘息、脈管炎、アレルギー、強皮症、糸球体腎炎および乾癬が含まれる。

30

#### 【0126】

別の実施形態において、IL-21 / IL-21Rアンタゴニストは、単独で、または、本明細書中に記載されるような他の治療剤（例えば、T N Fアンタゴニスト）との組合せで、多発性骨髄腫および関連したBリンパ球性悪性腫瘍を処置するために使用することができる（Brenne et al. (2002)、Blood, 99(10):3756-62）。

40

#### 【0127】

IL-21 / IL-21Rアンタゴニストを使用した場合、免疫応答を数多くの方法で調節することが可能である。ダウンリギュレーションは、既に進行している免疫応答を阻害または遮断する形態であってもよく、あるいは、免疫応答の誘導を妨げることを伴う場

50

合がある。活性化されたT細胞の機能を、T細胞の応答を抑制することによって、または、T細胞における特異的な寛容性を誘導することによって、または、両者によって阻害することができる。T細胞応答の免疫抑制は一般には、抑制剤へのT細胞の継続的な暴露を必要とする能動的な抗原非特異的なプロセスである。T細胞における非応答性またはアレルギーを誘導することを伴う寛容性は、寛容性が一般には抗原特異的であり、かつ、寛容化因子への暴露が中断された後も持続するという点で、免疫抑制とは区別可能である。操作的には、寛容性は、寛容化因子の非存在下で特定の抗原に再暴露したときのT細胞応答の欠如によって明らかにできる。

#### 【0128】

免疫機能を、例えば、IL-21/IL-21Rアンタゴニストを使用してダウンレギュレーションまたは防止することは、組織移植、皮膚移植および臓器移植の状況において有用であり、また、移植片対宿主病(GVHD)において有用である。例えば、T細胞の機能を阻害することにより、組織移植において組織の破壊を低下させることができる。典型的には、組織移植体において、移植体の拒絶は、T細胞による異物としてのその認識によって開始され、その後、移植体を破壊する免疫反応が続く。IL-21/IL-21Rアンタゴニストを、移植前、移植期間中または移植後に、単独で、または、他の免疫エフェクターの相互作用を阻害または遮断する分子との組合せで投与することは、免疫応答を低下させるために役立ち得る。

#### 【0129】

臓器移植拒絶またはGVHDを防止することにおけるIL-21/IL-21Rアンタゴニストの効力は、ヒトにおける効力または投薬を予測する動物モデルを使用して評価することができる。使用することができる適切な系の例には、ラットにおける同種心臓移植片、および、マウスにおける異種臓小島細胞移植片が含まれ、これらはともに、Lenschow et al. (1992)、Science、257:789-92、及び、Turka et al. (1992)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、89:11102-05に記載されるように、インビボでのCTL A4-Ig融合タンパク質の免疫抑制効果を調べるために使用されている。IL-21/IL-21Rアンタゴニストはまた、他の動物モデルにおいて、例えば、血管新生化心臓同種移植片および全層皮膚同種移植片についてのマウスモデルにおいて評価することができる。モデルは、完全なMHCミスマッチを有する組織の拒絶を調べることができ、また、IL-21遮断をドナー特異的なリンパ球輸血と組み合わせることができる。加えて、GVHDのマウスモデル(例えば、Paul ed. Fundamental Immunology、Raven Press、New York(1989)、pp. 846-47を参照のこと)を、GVHDまたはSLEの発症に対するインビボでのIL-21/IL-21Rアンタゴニストの効果を明らかにするために使用することができる。臓器移植拒絶またはGVHDを防止することにおけるIL-21/IL-21Rアンタゴニストの効力はまた、他の治療剤(例えば、免疫抑制剤、例えば、ラパマイシン、シクロスボリンまたはCTL A4 Igなど)との組合せで評価することができる。

#### 【0130】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストはまた、自己免疫疾患を処置するために治療的に有用であり得る。多くの自己免疫障害は、自己の組織に対する反応性を有し、かつ、疾患の病理に関するサイトカインおよび自己抗体の産生を促進させるT細胞の不適切な活性化の結果である。自己反応性T細胞の活性化を防止することにより、疾患症状が軽減または排除され得る。IL-21/IL-21Rアンタゴニストの投与は、単独または他の薬剤(例えば、本明細書中に記載されるような薬剤)との組合せであっても、T細胞の活性化を阻害し、かつ、疾患プロセスに関与し得る自己抗体またはT細胞由来サイトカインの産生を妨げるために使用することができる。加えて、IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、単独または他の薬剤(例えば、本明細書中に記載されるような薬剤)との組合せであっても、自己反応性T細胞の抗原特異的な寛容性を増大させ、かつ、疾患からの長期間の緩和をもたらす。自己免疫障害を防止または緩和することにおけるこれらの薬剤の効力は、ヒト免疫疾患の数多くの十分に特徴づけられている動物モデルを使用して明らかにできる。例には、マウスの実験的自己免疫脳炎、MRL/lpr/lpr

10

20

30

40

50

rマウスまたはN Z Bハイブリッドマウスでの全身性エリテマトーデス、マウスの自己免疫コラーゲン関節炎、NODマウスおよびB Bラットでの糖尿病、ならびに、マウスの実験的重症筋無力症が含まれる（例えば、Paul ed. Fundamental Immunology、Raven Press、New York(1989)、pp. 840-56を参照のこと）。

【0131】

1つの実施形態において、IL-21/IL-21Rアンタゴニスト（例えば、その医薬組成物）が併用治療において投与される：すなわち、病理学的な状態または障害（例えば、免疫障害および炎症性障害など）を処置するために有用な他の薬剤（例えば、治療剤）と組み合わされる。本明細書での用語「組合せで」は、薬剤が、同時または連続的のいずれかであって、実質的に同時に与えられることを意味する。連続的に与えられるならば、第2の化合物の投与を開始するときにおいて、2つの化合物のうちの最初の化合物が、好ましくは、処置部位または対象において効果的な濃度で依然として検出可能である。

10

【0132】

例えば、併用治療では、本明細書中においてより詳しく記載されるように、1つまたは複数のさらなる治療剤（例えば、1つまたは複数のサイトカイン阻害剤および増殖因子阻害剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、代謝阻害剤、酵素阻害剤、および/または、細胞障害剤または細胞増殖抑制剤）との同時配合および/または同時投与が行われる1つまたは複数のIL-21/IL-21Rアンタゴニスト（例えば、IL-21またはIL-21受容体に対する抗体またはその抗原結合性フラグメント（例えば、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体またはインビトロ作製抗体あるいはそれらの抗原結合性フラグメント）、IL-21融合タンパク質、可溶性のIL-21受容体、ペプチド阻害剤または小分子阻害剤）を含むことができる。さらに、本明細書中に記載される1つまたは複数のIL-21/IL-21Rアンタゴニストは、本明細書中に記載される治療剤の2つ以上との組合せで使用することができる。そのような併用治療では、投与された治療剤のより低い投薬量を都合良く利用することができ、従って、様々な単独治療に伴って起こり得る毒性または合併症を回避することができる。さらに、本明細書中に開示される治療剤は、IL-21/IL-21R受容体経路とは異なる経路に対して作用し、従って、IL-21/IL-21Rアンタゴニストの効果を増強し、および/または、IL-21/IL-21Rアンタゴニストの効果と相乗作用することが予想される。

20

【0133】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストとの組合せで使用することができる好ましい治療剤には、自己免疫応答およびその後の炎症性応答における種々の段階で妨害するそのような薬剤がある。1つの実施形態において、本明細書中に記載される1つまたは複数のIL-21/IL-21Rアンタゴニストは、1つまたは複数のさらなる薬剤、例えば、他のサイトカインアンタゴニストまたは増殖因子アンタゴニスト（例えば、可溶性受容体、ペプチド阻害剤、小分子、リガンド融合体）、あるいは、他の標的に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメント（例えば、他のサイトカインまたは増殖因子、それらの受容体、あるいは、他の細胞表面分子に結合する抗体）、および、抗炎症性サイトカインまたはそのアゴニストなどと同時配合および/または同時投与することができる。本明細書中に記載されるIL-21/IL-21Rアンタゴニストとの組合せで使用することができる薬剤の非限定的な例には、1つまたは複数のインターロイキン(IL)またはその受容体のアンタゴニスト、例えば、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-12、IL-13、IL-15、IL-16、IL-18およびIL-22のアンタゴニスト；サイトカインまたは増殖因子またはそれらの受容体のアンタゴニスト、例えば、腫瘍壊死因子(TNF)、LT、EMAP-II、GM-CSF、FGFおよびPDGFのアンタゴニストなどが含まれるが、これらに限定されない。IL-21/IL-21Rアンタゴニストはまた、例えば、細胞表面分子（例えば、CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80(B7.1)、CD86(B7.2)、CD90など）またはそれらのリガンド（CD154(gp39またはCD40L)またはLFA-1/ICAM-1およびVLA-4/V

30

40

50

C A M - 1 (Yusuf-Makagiansar et al. (2002)、Med. Res. Rev.、22(2):146～67)を含む)の阻害剤(例えば、それらに対する抗体)と組み合わせることができる。本明細書中に記載されるIL-21/IL-21Rアンタゴニストとの組合せで使用することができる好ましいアンタゴニストには、IL-1、IL-6、IL-12、TNF、IL-15、IL-17、IL-18およびIL-22のアンタゴニストが含まれる。

【0134】

そのような薬剤の例には、IL-12アンタゴニスト、例えば、IL-12(好ましくは、ヒトIL-12)に結合するキメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体またはインビトロ作製抗体(またはそれらの抗原結合性フラグメント)など、例えば、国際特許出願公開WO 00/56772 (Genetics Institute/BASF)に開示される抗体; IL-12受容体阻害剤、例えば、ヒトIL-12受容体に対する抗体; およびIL-12受容体(例えば、ヒトIL-12受容体)の可溶性フラグメントが含まれる。IL-6アンタゴニストの例には、IL-6またはその受容体に対する抗体(またはその抗原結合性フラグメント)(例えば、ヒトIL-6またはその受容体に対するキメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体またはインビトロ作製抗体)、IL-6受容体の可溶性フラグメント、および、IL-6結合性タンパク質が含まれる。IL-15アンタゴニストの例には、IL-15またはその受容体に対する抗体(またはその抗原結合性フラグメント)(例えば、IL-15またはその受容体に対するキメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体またはインビトロ作製抗体)、IL-15受容体の可溶性フラグメント、および、IL-15結合性タンパク質が含まれる。IL-18アンタゴニストの例には、ヒトIL-18に対する抗体(例えば、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体またはインビトロ作製抗体)(またはそれらの抗原結合性フラグメント)、IL-18受容体の可溶性フラグメント、および、IL-18結合性タンパク質(IL-18BP、Mallat et al. (2001)、Circ. Res.、89:e41-45)が含まれる。IL-1アンタゴニストの例には、インターロイキン-1変換酵素(ICE)阻害剤(例えば、Vx740など)、IL-1アンタゴニスト(例えば、IL-1RA(ANIKINRA(商標)、Amgen)、SIL1R1I(Immunex)および抗IL-1受容体抗体(またはその抗原結合性フラグメント)が含まれる。

【0135】

TNFアンタゴニストの例には、下記が含まれる: TNF(例えば、ヒトTNF)に対するキメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体またはインビトロ作製抗体(またはそれらの抗原結合性フラグメント)、例えば、D2E7(ヒトTNF抗体、米国特許第6,258,562号; BASF)、CDP-571/CDP-870/BAY-10-3356(ヒト化抗TNF抗体; Celltech/Pharmacia)、cA2(キメラ抗TNF抗体; REMICADE(商標)、Centocor)など; 抗TNF抗体フラグメント(例えば、CPD870); TNF受容体の可溶性フラグメント、例えば、p55またはp75のヒトTNF受容体またはその誘導体、例えば、75kdTNR-IgG(75kDa TNF受容体-IgG融合タンパク質、ENBREL(商標); Immunex; 例えば、Arthritis & Rheumatism(1994)、Vol. 37、S295; J. Invest. Med. (1996)、Vol. 44、235A)、p55kdTNR-IgG(55kDa TNF受容体-IgG融合タンパク質(Lenercept)); 酵素アンタゴニスト、例えば、TNF

変換酵素(TACE)阻害剤(例えば、-スルホニルヒドロキサム酸誘導体(国際特許出願WO 01/55112)およびN-ヒドロキシホルムアミド系TACE阻害剤(GW3333、GW005またはGW022); およびTNF-bp/s-TNFR(可溶性のTNF結合性タンパク質; 例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S284; Amer. J. Physiol.-Heart and Circulatory Physiology(1995)、Vol. 268、pp. 37-42を参照のこと)。好ましいTNFアンタゴニストは、TNF受容体の可溶性フラグメント(例えば、p55またはp75のヒトTNF受容体またはその誘導体、例えば、75kdTNR-IgGおよびTNF変換酵素(TACE)阻害剤である)。

【0136】

10

20

30

40

50

他の実施形態において、本明細書中に記載されるIL-21アンタゴニスト/IL-21Rアンタゴニストは下記の1つまたは複数との組合せで投与することができる：IL-13アンタゴニスト、例えば、可溶性IL-13受容体(sIL-13)、および/または、IL-13に対する抗体；IL-2アンタゴニスト、例えば、DAB 486-IL-2および/またはDAB 389-IL-2(IL-2融合タンパク質；Seragen；例えば、Arthritis & Rheumatism(1993)、Vol. 36、1223を参照のこと)、および/または、IL-2Rに対する抗体、例えば、抗Tac(ヒト化抗IL-2R；Protein Design Labs、Cancer Res.(1990)Mar 1、50(5):1495-502)。さらに別の組合せには、非枯渇性の抗CD4阻害剤(IDECC-CE9.1/SB 210396(非枯渇性の靈長類化抗CD4抗体；IDECC/SmithKline))との組合せでのIL-21アンタゴニストが含まれる。さらに他の好ましい組合せには、共刺激性経路のCD80(B7.1)またはCD86(B7.2)のアンタゴニスト(抗体、可溶性受容体またはアンタゴニスト性リガンドを含む)；ならびに、p-セレクチン糖タンパク質リガンド(PSGL)、抗炎症性サイトカイン、例えば、IL-4(DNAX/Schering)；IL-10(SCH52000；組換えIL-10 DNAX/Schering)；IL-13およびTGFならびにそのアゴニスト(例えば、アゴニスト抗体)が含まれる。

#### 【0137】

他の実施形態において、1つまたは複数のIL-21/IL-21Rアンタゴニストは、1つまたは複数の抗炎症性薬物、免疫抑制剤、または代謝阻害剤もしくは酵素阻害剤と同時配合および/または同時投与することができる。本明細書中に記載されるIL-21アンタゴニストとの組合せで使用することができる薬物または阻害剤の非限定的な例には、下記の1つまたは複数が含まれるが、それらに限定されない：非ステロイド系抗炎症性薬物(NSAID)、例えば、イブプロフェン、テニダブ(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S280を参照のこと)、ナプロキセン(例えば、Neuro Report(1996)、Vol. 7、pp.1209-1213を参照のこと)、メロキシカム、ピロキシカム、ジクロフェナクおよびインドメタシン；スルファサラジン(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S281を参照のこと)；コルチコステロイド、例えば、プレドニゾロンなど；サイトカイン抑制性の抗炎症性薬物(CSAD)；ヌクレオチド生合成の阻害剤、例えば、プリン生合成の阻害剤、葉酸アンタゴニスト(例えば、メトトレキサート(N-[4-[(2,4-ジアミノ-6-ブテリジニル)メチル]メチルアミノ]ベンゾイル]-L-グルタミン酸)；およびピリミジン生合成の阻害剤、例えば、ジヒドロオロト酸デヒドロゲナーゼ(DHODH)阻害剤(例えば、レフルノミド(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S131；Inflammation Research(1996)、Vol. 45、pp. 103-107を参照のこと)。IL-21/IL-21Rアンタゴニストとの組合せで使用される好ましい治療剤には、NSAID、CSAID、(DHODH)阻害剤(例えば、レフルノミド)および葉酸アンタゴニスト(例えば、メトトレキサート)が含まれる。

#### 【0138】

さらなる阻害剤の例には、下記の1つまたは複数が含まれる：コルチコステロイド(経口剤、吸入剤および局所注入剤)；免疫抑制剤、例えば、シクロスボリン、タクロリムス(FK-506)；およびmTOR阻害剤、例えば、シロリムス(ラパマイシン)またはラパマイシン誘導体、例えば、可溶性ラパマイシン誘導体(例えば、エステルラパマイシン誘導体、例えば、CCI-779(Elit(2002)、Current Opinion Investig. Drugs、3(8):1249-53;Huang et al. (2002)、Current Opinion Investig. Drugs、3(2):295-304)；前炎症性サイトカイン(例えば、TNF またはIL-1など)によるシグナル伝達を妨害する薬剤(例えば、IRAKキナーゼ阻害剤、NIKキナーゼ阻害剤、IKKキナーゼ阻害剤、p38キナーゼ阻害剤またはMAPキナーゼ阻害剤)；COX2阻害剤、例えば、セレコキシブおよびその変化体、MK-966、例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S81を参照のこと)；ホスホジエステラーゼ阻害剤、例えば、R973401(IV型ホスホジエステラーゼの阻害剤；例えば、Arthritis & Rh

10

20

30

40

50

eumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S282を参照のこと)；ホスホリパーゼ阻害剤、例えば、細胞質ゾルホスホリパーゼ2(cPLA2)の阻害剤(例えば、トリフルオロメチルケトンアナログ(米国特許第6,350,892号))；血管内皮細胞増殖因子または血管内皮細胞増殖因子受容体の阻害剤、例えば、VEGF阻害剤および/またはVEGF-R阻害剤；ならびに、血管形成の阻害剤。IL-21/IL-21Rアンタゴニストとの組合せで使用される好ましい治療剤には、免疫抑制剤、例えば、シクロスボリン、タクロリムス(FK-506)；およびmTOR阻害剤、例えば、シロリムス(ラバマイシン)またはラバマイシン誘導体、例えば、可溶性ラバマイシン誘導体(例えば、エステルラバマイシン誘導体、例えば、CC1-779)；COX2阻害剤、例えば、セレコキシブおよびその変化体；およびホスホリパーゼ阻害剤、例えば、細胞質ゾルホスホリパーゼ2(cPLA2)の阻害剤(例えば、トリフルオロメチルケトンアナログ)が含まれる。

10

## 【0139】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストと組み合わせることができる治療剤のさらなる例には、下記の1つまたは複数が含まれる：6-メルカプトプリン類(6-MP)；アザチオプリンスルファサラジン；メサラジン；オルサラジンクロロキン/ヒドロキシクロロキン；ペニシラミン；オーロチオマラート(筋肉内剤および経口剤)；アザチオプリン；コルヒチン；-2アドレナリン作動性アゴニスト(サルブタモール、テルブタリン、サルメテラール)；キサンチン類(テオフィリン、アミノフィリン)；クロモグリカート；ネドクロミル；ケトチフェン；イプラトロピウムおよびオキシトロピウム；ミコフェノラートモフェチル；アデノシンアゴニスト；抗血栓剤；補体阻害剤；およびアドレナリン作動剤。

20

## 【0140】

特定の免疫障害を処置または防止するための、他の治療剤との組合せでの本明細書中に開示されるIL-21/IL-21Rアンタゴニストの使用が、本明細書中ににおいて、さらに詳しく議論される。

## 【0141】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストが組み合わされ得る、関節炎障害(例えば、RA、炎症性関節炎、若年性RA、OAおよび乾癬性関節炎)を処置または防止するための薬剤の非限定的な例には、下記の1つまたは複数が含まれる：本明細書中に記載されるようなIL-12アンタゴニスト、NSAID；CSAID；本明細書中に記載されるようなTNF(例えば、TNF)アンタゴニスト；本明細書中に記載されるような非枯渴性のCD4抗体；本明細書中に記載されるようなIL-2アンタゴニスト；抗炎症性サイトカイン(例えば、IL-4、IL-10、IL-13およびTGF)またはそのアゴニスト；本明細書中に記載されるようなIL-1アンタゴニストまたはIL-1受容体アンタゴニスト；本明細書中に記載されるようなホスホジエステラーゼ阻害剤；本明細書中に記載されるようなCOX-2阻害剤；Iloprost(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S82を参照のこと)；メトトレキサート；サリドマイド(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S282を参照のこと)およびサリドマイド関連薬物(例えば、Celestin)；レフルノミド；プラスミノーゲン活性化の阻害剤、例えば、トラネキサム酸(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S284を参照のこと)；サイトカイン阻害剤、例えば、T-614(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S282を参照のこと)；プロスタグランジンE1(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S282を参照のこと)；アザチオプリン(例えば、Arthritis & Rheumatism(1996)、Vol. 39、No. 9(supplement)、S281を参照のこと)；インターロイキン-1変換酵素(ICE)の阻害剤；zap-70阻害剤および/またはlck阻害剤(チロシンキナーゼzap-70またはlckの阻害剤)；血管内皮細胞増殖因子または血管内皮細胞増殖因子受容体の本明細書中に記載されるような阻害剤；血管形成の本明細書中に記載されるような阻害剤；コルチコステ

30

40

40

50

ロイド系抗炎症性薬物（例えば、S B 2 0 3 5 8 0）；TNF変換酵素阻害剤；インターロイキン-11（例えば、Arthritis & Rheumatism（1996）、Vol. 39、No. 9（supplement）、S296を参照のこと）；IL-13（例えば、Arthritis & Rheumatism（1996）、Vol. 39、No. 9（supplement）、S308を参照のこと）；IL-17阻害剤（例えば、Arthritis & Rheumatism（1996）、Vol. 39、No. 9（supplement）、S120を参照のこと）；金；ペニシラミン；クロロキン；ヒドロキシクロロキン；クロラムブシリル；シクロホスファミド；シクロスボリン；全身リンパ系放射線照射；抗胸腺細胞グロブリン；CD5毒素；経口投与されるペプチドおよびコラーゲン；ロベンザリトニナトリウム；サイトカイン調節剤（CRA）のHP228およびHP466（Houghten Pharmaceuticals, Inc.）；ICAM-1アンチセンスホスホロチオアートオリゴデオキシヌクレオチド（ISIS2302；Isis Pharmaceuticals, Inc.）；可溶性の補体受容体1（TP10；T Cell Sciences, Inc.）；プレドニゾン；オルゴテイン；グリコサミノグリカンポリスルファート；ミノサイクリン；抗IL-21R抗体；海産物脂質および植物脂質（魚類および植物種子の脂肪酸；例えば、DeLuca et al.（1995、Rheum. Dis. Clin. North Am.、21:759-777を参照のこと）；オーラノフィン；フェニルブタゾン；メクロフェナム酸；フルフェナム酸；静注用免疫グロブリン；ジロイトン；ミコフェノール酸（RS-61443）；タクロリムス（FK-506）；シロリムス（ラパマイシン）；アミブリロース（テラフェクチン）；クラドリビン（2-クロロデオキシアデノシン）；およびアザリビン。好ましい組合せには、メトレキサートまたはレフルノミド、および、軽度または重症の関節リウマチの患者では、シクロスボリンとの組合せでの1つまたは複数のIL-21アンタゴニストが含まれる。

#### 【0142】

関節炎障害を処置するためにIL-21/IL-21Rアンタゴニストとの組合せで使用される阻害剤の好ましい例には、TNFアンタゴニスト（例えば、TNFに結合するキメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体またはインビトロ作製抗体、あるいは、それらの抗原結合性フラグメント）；TNF受容体の可溶性フラグメント、例えば、p55またはp75のヒトTNF受容体またはその誘導体、例えば、75kdtTNFR-IgG（75kDa TNF受容体-IgG融合タンパク質、ENBREL（商標））、p55kDa

TNF受容体-IgG融合タンパク質；TNF酵素アンタゴニスト、TNF変換酵素（TACE）阻害剤；IL-6、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-22のアンタゴニスト；T細胞枯渇化剤およびB細胞枯渇化剤（例えば、抗CD4抗体または抗CD22抗体）；小分子阻害剤、例えば、メトレキサートおよびレフルノミド；シロリムス（ラパマイシン）およびそのアナログ、CCl-779；Cox-2阻害剤およびcPLA2阻害剤；NSAID；p38阻害剤、TPL-2阻害剤、MK-2阻害剤およびNF-b阻害剤；RAGEまたは可溶性RAGE；P-セレクチン阻害剤またはPSGL-1阻害剤（例えば、小分子阻害剤、それらに対する抗体、例えば、P-セレクチンに対する抗体）；エストロゲン受容体（ERB）アゴニストまたはERB-NF

bアンタゴニストが含まれる。1つまたは複数のIL-21/IL-21Rアンタゴニストと同時投与および/または同時配合することができる最も好ましいさらなる治療剤には、下記の1つまたは複数が含まれる：TNF受容体の可溶性フラグメント、例えば、p55またはp75のヒトTNF受容体またはその誘導体、例えば、75kdtTNFR-IgG（75kDa TNF受容体-IgG融合タンパク質、ENBREL（商標））；メトレキサート、レフルノミド、あるいは、シロリムス（ラパマイシン）またはそのアナログ（例えば、CCl-779）。

#### 【0143】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストが組み合わされ得る、多発硬化症を処置または防止するための薬剤の非限定的な例には、下記が含まれる：インターフェロン、例えば、インターフェロン-1a（例えば、AVONEX（商標）；Biogen）およびインターフェロン-1b（（BETASERON（商標）；Chiron/Berlex）

10

20

30

30

40

50

；コポリマー1（Cop-I；COPAXONE（商標）；Teva Pharmaceutical Industries, Inc.）；高压酸素；静注用免疫グロブリン；クラブリピン；本明細書中に記載されるようなTNFアンタゴニスト；コルチコステロイド；プレドニゾロン；メチルプレドニゾロン；アザチオプリン；シクロホスファミド；シクロスボリン；メトトレキサート；4-アミノピリジン；およびチザニジン。IL-21との組合せで使用することができるさらなるアンタゴニストには、他のヒトサイトカインまたは増殖因子（例えば、TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-12、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-11、GM-CSF、FGFおよびPDGF）に対する抗体、あるいは、他のヒトサイトカインまたは増殖因子（例えば、TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-12、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-11、GM-CSF、FGFおよびPDGF）のアンタゴニストが含まれる。本明細書中に記載されるようなIL-21アンタゴニストは、細胞表面分子（例えば、CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80、CD86、CD90）またはそれらのリガンドに対する抗体と組み合わせることができる。IL-21アンタゴニストはまた、様々な薬剤と組み合わせることができ、例えば、メトトレキサート、シクロスボリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノラートモフェチル、レフルノミド、NSAID（例えば、イブプロフェン）、コルチコステロイド（例えば、プレドニゾロンなど）、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体阻害剤、アドレナリン作動剤、本明細書中に記載されるような前炎症性サイトカインによるシグナル伝達を妨害する薬剤、IL-1b変換酵素阻害剤（例えば、VX740）、抗P75、PSGL、TACE阻害剤、T細胞シグナル伝達阻害剤（例えば、キナーゼ阻害剤など）、メタロプロテイナーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン類、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、本明細書中に記載されるような可溶性サイトカイン受容体およびその誘導体、ならびに、抗炎症性サイトカイン（例えば、IL-4、IL-10、IL-13およびTGF）などと組み合わせることができる。

#### 【0144】

IL-21アンタゴニストが組み合わされ得る、多発性硬化症のための治療剤の好ましい例には、インターフェロン-b（例えば、IFN-1aおよびIFN-1b）；コパキソン、コルチコステロイド、IL-1阻害剤、TNF阻害剤、CD40リガンドおよびCD80に対する抗体、IL-12アンタゴニストが含まれる。

#### 【0145】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストが組み合わされ得る、炎症性腸疾患（クロhn病；潰瘍性大腸炎）を処置または防止するための薬剤の非限定的な例には、下記が含まれる：ブデノシド；上皮増殖因子；コルチコステロイド；シクロスボリン、スルファサラジン；アミノサリチラート類；6-メルカプトプリン；アザチオプリン；メトロニダゾール；リポキシゲナーゼ阻害剤；メサラミン；オルサラジン；バルサラジド；抗酸化剤；トロンボキサン阻害剤；IL-1受容体アンタゴニスト；抗IL-1モノクローナル抗体；抗IL-6モノクローナル抗体；増殖因子；エラスターーゼ阻害剤；ビリジニルイミダゾール化合物；本明細書中に記載されるようなTNFアンタゴニスト；IL-4、IL-10、IL-13および/またはTGFbの各サイトカインまたはそのアゴニスト（例えば、アゴニスト抗体）；IL-11；プレドニゾロン、デキサメタゾンまたはブデノシドのグルクロニドコンジュゲート化プロドラッグまたはデキストランコンジュゲート化プロドラッグ；ICAM-1アンチセンスホスホロチオアートオリゴデオキシヌクレオチド（ISIIS230；Isis Pharmaceuticals, Inc.）；可溶性の補体受容体1（TP10；T Cell Sciences, Inc.）；徐放性メサラジン；メトトレキサート；血小板活性化因子（PAF）のアンタゴニスト；シプロフロキサン；およびリグノカイン。

#### 【0146】

1つの実施形態において、IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、免疫応答（例

10

20

30

30

40

50

えば、移植拒絶、移植片対宿主病、または、他の免疫応答関連障害)を調節することに関与する他の標的に向けられた1つまたは複数の抗体との組合せで使用することができる。本発明のIL-21/IL-21Rアンタゴニストが組み合わされ得る、免疫応答を処置または防止するための薬剤の非限定的な例には、下記が含まれる：細胞表面分子またはそのリガンドに対する抗体(これには、CD25(IL-2受容体-a)、CD11a(LFA-1)、CD54(ICAM-1)、CD4、CD40、CD40L、CD45、CD28/CTLA4、CD80(B7-1)および/またはCD86(B7-2)(これらに限定されない)に対する抗体が含まれる)。さらに別の実施形態において、IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、コルチコステロイド；シロリムス(ラパマイシン)およびそのアナログ(例えば、CCI-779)；シクロスボリンA；FK506；FTY720；アザチオプリン；シクロホスファミド；メトトレキサート；抗IL-2R抗体(例えば、バシリキシマブ、ダクリズマブ)；cA2(キメラな抗TNF抗体；REMI CADe(商標)、Centocor)；抗CD3抗体(例えば、muromonab-CD3)；コボリマーワークス(Cop-1；COPAXONE(商標))；Teva Pharmaceutical Industries, Inc.)；デオキシスペルグアリン；およびミコフェノラートモフェチルとの組合せで使用することができる。  
10

## 【0147】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストが組み合わされ得る、乾癬および他の皮膚状態を処置または防止するための薬剤の非限定的な例には、下記の1つまたは複数が含まれる：CD2相互作用またはLFA-3相互作用の阻害剤(例えば、可溶性のCD2ポリペプチドまたはLFAポリペプチド(例えば、Fc融合体など)、あるいは、CD2またはLFA-3に対する抗体)、シクロスボリンA、ブレドニゾン、FK506、メトトレキサート、PUVA、UV光、ステロイド、レチノイド、インターフェロンまたはナイトロジエンマスター。IL-21/IL-21Rアンタゴニストとの組合せで使用することができる好ましい薬剤の例には、シクロスボリンAおよびメトトレキサートが含まれる。  
20

## 【0148】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストが組み合わされ得る、喘息を処置または防止するための薬剤の非限定的な例には、本明細書中に記載されるように、下記の1つまたは複数が含まれる：吸入気管支拡張剤、例えば、ピルブテロール、ビトルテロール、メタブロテレノール；2-アドレナリン受容体アゴニスト、例えば、アルブテロール、テルブタリン、サルメテロール、ホルモテロール；抗ムスカリン剤、例えば、イプラトロピウム、オキシトロピウム；全身性コルチコステロイド、例えば、ブレドニゾン、ブレドニゾロン、デキサメタゾン；吸入コルチコステロイド、例えば、フルチカゾン、ブデソニド、ベクロメタゾン、モメタゾン；ロイコトリエンアンタゴニスト、例えば、モンテルカストナトリウム、ザフィルルカスト；マスト細胞安定化剤、例えば、クロモリンナトリウム、ネドクロミル；オマリズマブ(XOLAIR(商標)；Genentech/Novartis)；またはCOX-2阻害剤。  
30

## 【0149】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストが組み合わされ得る、狼瘡(例えば、SLE)を処置または防止するための薬剤の非限定的な例には、下記の1つまたは複数が含まれる：IL-6/IL-6Rアンタゴニスト、例えば、抗IL-6抗体または抗IL-6R抗体；NSAID；コルチコステロイド、例えば、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルブレドニゾロン、ブレドニゾロン、ブレドニゾン；アザチオプリン、シクロホスファミド、ヒドロキシクロロキンまたはクロロキン。  
40

## 【0150】

従って、本発明の別の態様は、IL-21/IL-21Rアンタゴニストと、他の治療剤化合物との併用投与を行うためのキットに関連する。1つの実施形態において、キットは、医薬用キャリアに配合された1つまたは複数の結合性因子と、1つまたは複数の別個の医薬調製物に適するように配合された少なくとも1つの薬剤(例えば、治療剤)とを含む。  
50

## 【0151】

## 例示的障害

関節リウマチは、関節における痛み、腫れ、硬直および機能喪失を引き起こす自己免疫炎症性疾患である。関節リウマチは対称的なパターンで現れることが多い。この疾患は、手関節、および、手に最も近い指の関節を冒し得る。この疾患はまた、関節のほかに、身体の他の部分も冒し得る。加えて、関節リウマチを有する人々は、疲労、時々の発熱、および、全身的倦怠を有する場合がある。関節リウマチを診断するための陽性因子には、「リウマチ因子」血中抗体およびシトルリン抗体が含まれる。IL-21/IL-21Rアントゴニストは、関節リウマチ、あるいは、関節リウマチの1つまたは複数の症状を処置、防止または緩和することにおいて有用であり得る。

10

## 【0152】

全身性エリテマトーデス (SLE) は、様々な身体組織に対する炎症および損傷をもたらす自己免疫障害である。SLEは、自身のDNAに向けられた自己抗体によって媒介され得る。狼瘡は、関節、皮膚、腎臓、心臓、肺、血管および脳をはじめとする身体の多くの部分を冒し得る。様々な症状が現れ得るが、最も一般的な症状のいくつかには、極度の疲労、痛みまたは腫れた関節（関節炎）、説明できない発熱、皮膚の発疹、および、腎臓の問題（例えば、糸球体腎炎）が含まれる。狼瘡の例示的な症状には、痛みまたは腫れのある関節、説明できない発熱、および、極度の疲労が含まれる。特徴的な赤い皮膚発疹が鼻および頬の全体に現れる場合がある。発疹はまた、顔および耳、上腕、肩、胸ならびに手にも生じる場合がある。狼瘡の他の症状には、胸の痛み、脱毛、貧血、口内炎、ならびに、寒さおよびストレスから生じる蒼白または紫色の指およびつま先が含まれる。一部の人々はまた、頭痛、めまい、うつ病、錯乱または発作を経験する。SLE診断のための陽性因子には、循環している抗核抗体、抗DNA抗体および抗Sm抗体が含まれる。IL-21/IL-21Rアントゴニストは、SLE、あるいは、SLEの1つまたは複数の症状を処置、改善（緩和）または防止することにおいて有用であり得る。

20

## 【0153】

硬直性脊椎炎は、脊椎を冒すだけでなく、骨および関節の周りの腱および靭帯が炎症し、痛みおよび硬直をもたらすように、股関節、肩および膝もまた冒すことがある自己免疫障害である。硬直性脊椎炎は後期思春期または初期青年期の人々を冒す傾向がある。IL-21/IL-21Rアントゴニストは、硬直性脊椎炎、あるいは、その1つまたは複数の症状を処置、防止または緩和することにおいて有用であり得る。

30

## 【0154】

炎症性腸疾患 (IBD) は、腸における炎症を引き起こす疾患についての一般的な名称である。炎症性腸疾患の2つの例がクローン病および潰瘍性大腸炎である。IL-21/IL-21Rアントゴニストは、炎症性腸疾患、あるいは、炎症性腸疾患の1つまたは複数の症状を処置、防止または緩和することにおいて有用であり得る。

## 【0155】

クローン病は小腸における炎症を引き起こす。クローン病は、通常的には小腸の下部部分（回腸）に生じるが、しかし、口から肛門までの消化管の任意の部分を冒し得る。炎症は罹患器官の内膜内に深く広がることがあり、痛みをもたらし、また、腸をしばしば空にし、下痢をもたらす。クローン病の最も一般的な症状は、腹痛（下部右側領域であることが多い）および下痢である。直腸出血、体重減少および発熱もまた生じる場合がある。出血は重篤かつ持続的である場合があり、貧血をもたらす。腸の直接的な映像化は、炎症の程度を明らかにするために有用である場合がある。

40

## 【0156】

潰瘍性大腸炎は、大腸の内膜における炎症およびただれ（潰瘍と呼ばれる）を引き超す疾患である。炎症は通常、直腸、および、結腸の下部部分に生じるが、しかし、結腸全体を冒す場合がある。潰瘍性大腸炎は、回腸末端と呼ばれる末端部を除いて、小腸を冒すことは希である。炎症は回腸をしばしば空にし、下痢を引き起こす。潰瘍が、炎症により、結腸の内側を覆う細胞が死んだところに形成される；潰瘍は出血し、膿を生じさせる。潰

50

瘍性大腸炎の最も一般的な症状は腹痛および出血性下痢である。患者はまた、疲労、体重減少、食欲喪失、直腸出血、ならびに、体液および栄養分の喪失を経験する場合がある。患者の約半数は症状が軽症である。他の患者は、頻繁な発熱、出血性下痢、恶心、および、重篤な腹部痙攣を経験する。潰瘍性大腸炎はまた、さまざまな問題（例えば、関節炎、眼の炎症、肝臓疾患（肝炎、肝硬変および原発性硬化性胆管炎）、骨粗鬆症、皮膚発疹および貧血など）を引き起こす場合がある。潰瘍性大腸炎の診断は、典型的には、血便の特定、および、結腸の直接的な映像化に依存する。

#### 【0157】

乾癬は、鱗屑および炎症の慢性的な皮膚疾患である。乾癬は、皮膚細胞が皮膚の表面の下方のその起源から迅速に現れ、かつ、その細胞が成熟する機会を有する前に表面に積み重なるときに生じる。通常、この移動（これはまた回転とも呼ばれる）は約1ヶ月を要するが、乾癬では、ほんの数日で生じることがある。その典型的な形態において、乾癬は、銀色の鱗片で覆われた密集する炎症した皮膚領域をもたらす。このような領域は、ブラークと呼ばれることがあり、通常の場合には痒いか、または、ヒリヒリ感じる。このような領域は、肘、膝、脚の他の部分、頭皮、下部背中、顔、手のひら、および、足の裏に生じることが多く、しかし、身体表面のどこでも皮膚に生じ得る。乾癬の診断は主にこれらの特徴的な症状に基づいている。皮膚生検は診断において有用であり得る。IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、乾癬、あるいは、乾癬の1つまたは複数の症状を処置、防止または緩和することにおいて有用であり得る。乾癬性関節炎が乾癬（鱗屑性皮膚障害）患者の一部において生じる。乾癬性関節炎は、多くの場合、指および足指の末端での関節を冒し、指の爪および足指の爪の変形が付随する。脊椎が関与するならば、背中の痛みが生じる場合がある。IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、乾癬、あるいは、乾癬または乾癬性関節炎の1つまたは複数の症状を処置、防止または緩和することにおいて有用であり得る。

10

20

30

40

#### 【0158】

腎糸球体疾患には、増殖性障害および非増殖性障害の両方が含まれる。糸球体腎炎は、腎糸球体内の炎症および細胞増殖を伴って現れる障害である（例えば、Hricik et al. (1998)、New Eng. J. Med.、339:888-99を参照のこと）。非増殖性および硬化性の腎糸球体症には、膜性腎糸球体症、糖尿病性腎糸球体症、巣状分節性腎糸球体硬化症、菲薄基底膜疾患、アミロイドーシス、軽鎖腎症、HIV腎症、アルポート症候群、薬物誘導による腎糸球体症、および、微小変化群が含まれる。炎症を伴う腎糸球体疾患は、主として、自己免疫から生じる抗体媒介による腎糸球体の傷害のために生じる。体液性免疫の活性化により、腎糸球体細胞表面（例えば、基底膜）に対する抗体の産生がもたらされ得るし、循環している抗原-抗体複合体が腎糸球体内に堆積する。これが糸球体腎炎の病理の一因であると報告されている。従って、腎糸球体傷害および糸球体腎炎は、より大きな全身的自己免疫障害（例えば、SLE、肝炎および線維化障害など）から生じることが多い。糸球体腎炎はまた、IgA腎症、ヘノッホ-シェーンライン紫斑病、感染（例えば、細菌、ウイルス、原虫によって引き起こされる）、脈管炎、クリオグロブリン血症、遺伝性腎炎、肉芽腫症（例えば、ウェーベナー肉芽腫症、微視的多発性血管炎（microscopic polyangiitis）およびチャーグ-ストラウス症候群）、腎糸球体基底膜疾患、グッドパスチャー症候群、腎炎症候群（例えば、糖尿病、狼瘡（例えば、SLE）、アミロイドーシス、薬物使用、ガンおよび感染とともに生じるような腎炎症候群）、リポジストロフィー、鎌状赤血球疾患、補体不全、膜増殖性糸球体腎炎、狼瘡腎炎および狼瘡膜性腎症に関連する場合がある。IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、糸球体腎炎、あるいは、糸球体腎炎および腎糸球体疾患の1つまたは複数の症状を処置、改善または防止することにおいて有用であり得る。

30

40

#### 【0159】

IL-21/IL-21Rアンタゴニストは、例えば、臓器、組織または細胞（例えば、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓または骨髄）の移植前または移植期間中または移植後において、組織/移植片拒絶、または、拒絶に関連する症状を防止または処置するために使用

50

することができる。移植 / 移植片拒絶は、宿主生物の免疫系が、移植された組織（例えば、同系組織、同種組織または異種組織）における非自己抗原に対する免疫応答を生じさせるときに生じる。拒絶は、例えば、抗体またはリンパ球または両者によって媒介され得るし、また、例えば、超急性拒絶（例えば、移植後早期の期間中）、急性拒絶および慢性的拒絶（一般には、移植片機能の進行性の低下を引き起こすゆっくり発症するプロセス）を含めて、様々な異なる方法で現れ得る。拒絶は、炎症が付随する事が多く、移植された組織または臓器の損傷および / または機能不全（例えば、血管障害、線維化、または、臓器機能の喪失）を生じさせ得る。拒絶期間中、宿主は、全身的な不快、移植の領域での痛みまたは腫れ、および / または、発熱を経験する場合がある。臓器および組織の移植体は、例えば、拒絶の徴候について生検試料を調べることによって、または、臓器機能を評価することによって、拒絶についてモニターすることができる。拒絶の組織病理学的徴候には、例えば、HLAクラスII抗原の増大した発現（例えば、腎臓移植後における尿細管細胞において）が含まれる。肝臓機能を、例えば、ビリルビンおよび肝臓酵素（例えば、アルカリホスファターゼ）の血清中レベルを測定することによって評価することができる。腎臓機能を、例えば、血清中のクレアチニンレベルを測定することによって評価することができる。

10

#### 【0160】

変形性関節症（OA）は、関節における軟骨の破壊によって特徴づけられる。これは軟骨下の骨を一緒にこすれさせ、これにより、痛み、腫れ、および、関節の運動喪失を引き起こす。時間とともに、関節はその正常な形状を失う場合があり、また、骨棘突起または骨棘が関節の縁で成長する場合がある。加えて、骨または軟骨の小片がはがれ、関節空間の内部に漂い、これにより、より大きな痛みおよび損傷を引き起こす。OAを有する人々は、典型的には、関節の痛みおよび制限された動きを有する。いくつかの他の形態の関節炎とは異なり、OAは関節のみを冒すだけであり、体内器官は冒さない。OAの診断のための陽性因子には、X線によって認められるような軟骨の喪失が含まれる。IL-21 / IL-21Rアンタゴニストは、OA、あるいは、OAの1つまたは複数の症状を処置、防止または緩和することにおいて有用であり得る。

20

#### 【0161】

##### 呼吸器障害

IL-21 / IL-21Rアンタゴニストは、喘息（例えば、アレルギー性喘息および非アレルギー性喘息）；気管支炎（例えば、慢性気管支炎）；慢性閉塞性肺疾患（COPD）（例えば、気腫、例えば、タバコ誘導による気腫）；気道炎症、好酸球増加症、線維化および過度な粘液産生を伴う状態（例えば、囊胞性線維症、肺線維症およびアレルギー性鼻炎）（これらに限定されない）をはじめとする呼吸器障害を処置するために使用することができる。

30

#### 【0162】

喘息を処置または防止するための方法では、外因性喘息（これはまた、アレルギー性喘息またはアトピー性喘息として知られている）、内因性喘息（これはまた、非アレルギー性喘息または非アトピー性喘息として知られている）、または、両者の組合せ（これは混合型喘息と呼ばれている）のための方法が含まれる。外因性喘息またはアレルギー性喘息には、例えば、アレルゲン（例えば、花粉、胞子、草または雑草、ペットの鱗屑、ダスト、ダニなど）によって引き起こされるか、または、そのようなアレルゲンに関連する発生が含まれる。アレルゲンおよび他の刺激物質が年間を通して様々な時点で現れるので、これらのタイプの発生はまた季節性喘息とも呼ばれる。外因性喘息の群にはまた、気管支喘息およびアレルギー性気管支肺アスペルギルス症が含まれる。

40

#### 【0163】

本発明の方法によって処置または緩和され得る喘息には、感染性因子（例えば、ウイルス（例えば、風邪および流感ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス（RSV）、パラミクソウイルス、ライノウイルスおよびインフルエンザウイルス）によって引き起こされる喘息が含まれる。RSV、ライノウイルスおよびインフルエンザウイルスの感染が小児では一般

50

的であり、ウイルス感染が乳幼児および若年小児における気道の病気の主要な原因の1つである。ウイルス性気管支炎の小児は慢性的な喘鳴および喘息を発症し得るが、これらは、本発明の方法を使用して処置することができる。運動および/または冷気によって一部の喘息患者において生じ得る喘息状態もまた含まれる。本発明の方法は、煙暴露（例えば、タバコ誘導および工場の煙）、ならびに、産業的および職業的な暴露（例えば、煤煙など）；オゾン；有害ガス；二酸化イオウ；亜酸化窒素；塗料、プラスチック、ポリウレタン、ニスなどに由来する蒸気（イソシアナートを含む）；木材ダスト、植物ダストまたは他の有機ダスト；その他に関連する喘息について有用である。本発明の方法はまた、食品添加物、保存剤または薬理学的薬剤に関連する喘息発生についても有用である。無症状喘息または咳喘息として示されるタイプの喘息を処置、阻害または緩和するための方法もまた含まれる。

10

#### 【0164】

本明細書中に開示される方法はまた、気管支収縮を刺激し得る、胃食道逆流（GERD）に関連する喘息の処置および緩和のために有用である。GERDは、保持された体分泌液、抑制された咳、ならびに、寝室におけるアレルゲンおよび刺激物質に対する暴露と並んで、夜間喘息または夜間性喘息と総称されている喘息状態の一因になり得る。GERDに関連する喘息を処置、阻害または緩和する方法では、医薬的に効果的な量のIL-21/IL-21Rアンタゴニストを、GERDを処置するための薬剤の医薬的に効果的な量との組合せで本明細書中に記載されるように使用することができる。このような薬剤には、プロトンポンプ阻害剤、例えば、PROTONIX（登録商標）の商品名の遅延放出パントプラゾールナトリウム錠剤、PRILOSEC（登録商標）の商品名のオメプラゾール遅延放出カプセル、ACI PHEX（登録商標）の商品名のレベプラゾールナトリウム遅延放出錠剤、または、PREVACID（登録商標）の商品名の遅延放出ランソプラゾールカプセルが含まれるが、これらに限定されない。

20

#### 【0165】

##### アトピー性障害およびその症状

「アトピー性」は、アレルギー反応を発症する遺伝的傾向が多くの場合には存在する一群の疾患を示す。アトピー性障害の例には、アレルギー、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎および枯草熱が含まれる。IL-21/IL-21R経路アンタゴニストを、アトピー性障害、あるいは、その症状の1つまたは複数を改善するために投与することができる。

30

#### 【0166】

アレルギー性鼻炎（枯草熱）の症状には、痒い鼻、粘液分泌の鼻、くしゃみ性の鼻、または、鼻詰まり、および、痒い眼が含まれる。IL-21/IL-21R経路アンタゴニストを、これらの症状の1つまたは複数を改善するために投与することができる。

#### 【0167】

アトピー性皮膚炎は、皮膚を冒す慢性的疾患である。アトピー性皮膚炎に関する情報を、例えば、NIH Publication No. 03-4272から入手可能である。アトピー性皮膚炎では、皮膚は極めて痒くなり、赤色、腫れ、亀裂、透明な流体の滲出、ならびに、最終的には、痂皮化および落屑をもたらし得る。多くの場合において、疾患が悪化する期間（これは憎悪またはフレアと呼ばれる）が存在し、その後、皮膚が完全に改善または治る期間（これは寛解と呼ばれる）が存在する。アトピー性皮膚炎は「湿疹」と呼ばれることが多い（この用語は、皮膚の数タイプの炎症についての一般的な用語である）。アトピー性皮膚炎は多くのタイプの湿疹の中で最も一般的なものである。アトピー性皮膚炎の例には、次のものが含まれる：アレルギー性の接触湿疹または接触皮膚炎（これは、例えば、皮膚が異物（例えば、ウルシ、または、クリームおよびローションにおけるある種の保存剤など）と接触した場合における赤色の痒みをともなう滲出反応として時々現れる）；接触性湿疹（例えば、皮膚がアレルゲンまたは刺激物質（例えば、酸、洗浄剤または化学物質）と接触した場合における、赤色、痒みおよび灼熱感を含む局所的な反応）；異汗性湿疹（例えば、痒く、ヒリヒリする透明で、深い水疱によって特徴づけら

40

50

れる、手のひらおよび足の裏における皮膚の炎症) ; 神経皮膚炎(例えば、かいたときに、強く刺激される局所的な痒み(例えば、昆虫咬傷など)によって引き起こされる、頭部、下部脚、手首または前腕における皮膚のうろこ状領域) ; 貨幣状湿疹(例えば、痂皮化、落屑および極めて痒くなり得る、炎症した皮膚のコイン形状領域(腕、背中、臀部および下部脚において最も一般的である)として現れる) ; 脂漏性湿疹(例えば、頭皮、顔、および、時々ではあるが、身体の他の部分における黄色がかった油性のうろこ状領域として現れる)。さらなる具体的な症状には、うつ滯性皮膚炎、アトピー性プリーツ(例えば、Dennie-Morgan皺襞)、口唇炎、ハイパーリニア(hyperlinear)掌、色素沈着過多なまぶた; 炎症または枯草熱、魚鱗癬、毛孔性角化症、苔癬、丘疹およびじんま疹から生じる、色がより濃くなっているまぶたが含まれる。IL-21/IL-21R 経路アンタゴニストを、これらの症状の1つまたは複数を改善するために投与することができる。

10

#### 【0168】

##### 線維化障害

コラーゲンの産生は非常に調節されたプロセスではあるが、その乱れは組織線維化の発達をもたらし得る。線維性物質の異常な蓄積は究極的には臓器不全をもたらし得る(Bordet al. (1994)、New Engl. J. Med.、331:1286-92)。いずれかの臓器に対する傷害は、常的な生理学的応答(血小板誘導によるうっ血)、それに続く、炎症性細胞および活性化された線維芽細胞の流入をもたらし得る。これらの細胞タイプに由来するサイトカインにより、新しい細胞外マトリックスおよび血管(肉芽組織)の形成が促進される。肉芽組織の生成は、プロテアーゼ阻害剤および細胞外マトリックスタンパク質の発現がアップレギュレーションされ、かつ、プロテアーゼの発現が低下し、それらにより、細胞外マトリックスの蓄積をもたらす入念に協奏されたプログラムである。

20

#### 【0169】

線維化状態の発達は、誘導的または自然発症的のいずれかであっても、少なくとも部分的には、線維芽細胞の活性が刺激されることによって引き起こされる。傷害を受けた臓器への炎症性細胞および活性化された線維芽細胞の流入は、主にコラーゲンを含有する間質マトリックスと相互作用するこれらの細胞タイプの能力に依存する。線維性組織の増殖に関連する疾患の多くは、例えば、皮膚疾患(例えば、強皮症など)を含めて、慢性的であり、かつ、多くの場合には衰弱性である。肺線維症を含めて、一部の疾患は、ひとつには、この疾患に対する現在利用可能な処置は著しい副作用を有しており、また、線維化の進行を遅延または停止させることにおいて一般には有効でないという事実のために、致死的であり得る(Nagler et al. (1996)、Am. J. Respir. Crit. Care Med.、154:1082-86)。

30

#### 【0170】

線維化障害には、線維化によって特徴づけられる障害、たとえば、体内器官の線維化、皮膚の線維化性障害、および、眼の線維化状態が含まれる。体内器官(例えば、肝臓、肺、腎臓、心臓血管、胃腸管)の線維化が、肺線維症、骨髄線維症、肝硬変、メサンギウム増殖性糸球体腎炎、半月体形成性糸球体腎炎、糖尿病性腎症、腎臓間質性線維症、シクロスボリンを受けている患者における腎臓線維症、および、HIV関連腎症などの障害において生じる。

40

#### 【0171】

皮膚の線維化性障害には、例えば、強皮症、限局性強皮症、ケロイド、肥厚性瘢痕、家族性皮膚コラゲノーマ、および、コラーゲンタイプの結合組織母斑が含まれる。眼の線維化状態には、糖尿病網膜症、手術後痕形成(例えば、緑内障ろ過手術後および斜視手術後)および増殖性硝子体網膜症が含まれる。

#### 【0172】

本発明の方法によって処置することができるさらなる線維化状態には、関節リウマチ、長期間にわたる関節痛および悪化した関節に関連する疾患、全身性硬化症(進行性全身性硬化症を含む)、多発性筋炎、皮膚筋炎、好酸球性筋膜炎、限局性強皮症(局在化された強皮症)、レイノー症候群および鼻ポリポーシスが含まれる。

50

## 【0173】

IL-21/IL-21R 経路アンタゴニストを、線維化障害を処置または防止するために、あるいは、これらの障害の症状の1つまたは複数を改善するために投与することができる。

## 【0174】

サイトカイン産生および細胞増殖/分化の調節剤としてのIL-21/IL-21Rアンタゴニストの活性を測定するための方法

サイトカイン産生および細胞増殖/分化の調節剤としてのIL-21/IL-21Rアンタゴニストの活性を、細胞株(32D、DA2、DA1G、T10、B9、B9/11、BaF3、MC9/G、M+(preB M+))、2E8、RB5、DA1、123、T1165、HT2、CTL2、TF-1、Mo7eおよびCMK(これらに限定されない)を含む)についての数多くの日常的な因子依存的細胞増殖アッセイのいずれか1つを使用して調べることができる。

10

## 【0175】

T細胞または胸腺細胞の増殖についてのアッセイには、限定されないが、下記に記載されるアッセイが含まれる: Current Protocols in Immunology、Ed by. J. E. Coligan、A. M. Kruisbeek、D. H. Margulies、E. M. Shevach、W. Strober、pub. Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience(Chapter 3、In vitro assays for Mouse Lymphocyte Function 3.1-3.19; Chapter 7、Immunologic studies in Humans); Takai et al. (1986)、J. Immunol.、137:3494-500; Bertagnolli et al. (1990)、J. Immunol.、145:1706-12; Bertagnolli et al. (1991)、Cellular Immunology、133:327-41; Bertagnolli et al. (1992)、J. Immunol.、149:3778-83; Bowman et al. (1994)、J. Immunol.、152:1756-61。脾臓細胞、リンパ節細胞または胸腺細胞のサイトカイン産生および/または増殖についてのアッセイには、限定されないが、下記に記載されるアッセイが含まれる: ポリクローナルT細胞の刺激(Polyclonal T cell stimulation)、Kruisbeek、A. M. and Shevach, E. M.、Current Protocols in Immunology、J. E. e.a. Coligan eds. Vol 1、pp. 3.12.1-3.12.14、John Wiley and Sons、Toronto、1994; および、マウスおよびヒトのインターフェロンガンマの測定(Measurement of mouse and human Interferon gamma)、Schreiber, R. D.、Current Protocols in Immunology、J. E.e.a. Coligan eds. Vol 1、pp. 6.8.1-6.8.8、John Wiley and Sons、Toronto、1994。

20

30

## 【0176】

造血系細胞およびリンパ球生成細胞の増殖および分化についてのアッセイには、限定されないが、下記に記載されるアッセイが含まれる: ヒトおよびマウスのインターロイキン2およびインターロイキン4の測定(Measurement of Human and Murine Interleukin 2 and Interleukin 4)、Bottomly, K.、Davis, L. S. and Lipsky, P. E.、Current Protocols in Immunology、J. E.e.a. Coligan eds. Vol 1、pp. 6.3.1-6.3.12、John Wiley and Sons、Toronto、1991; deVries et al. (1991)、J. Exp. Med.、173:1205-11; Moreau et al. (1988)、Nature、336:690-92; Greenberger et al. (1983)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、80:2931-38; マウスおよびヒトのインターロイキン6の測定(Measurement of mouse and human Interleukin 6)、Nordan, R.、Current Protocols in Immunology、J. E. e.a. Coligan eds. Vol 1、pp. 6.6.1-6.6.5、John Wiley and Sons、Toronto、1991; Smith et al. (1986)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、83:1857-61; ヒトインターロイキン11の測定(Measurement of human Interleukin 11)、Bennett, F.、Giannotti, J.、Clark, S. C. and Turner, K. J.、Current Protocols in Immunology、J. E.e.a. Coligan eds. Vol 1、pp. 6.15.1、John Wiley and Sons、Toronto、1991; マウスおよびヒトのインターロイキン9の測定(Measurement of mouse and human Interleukin 9)、Ciarlett, A.、Giannotti, J.、Clark, S. C. and Turner, K. J.、Current Protocols in Immunology、J. E.e.a. Coligan eds. Vol 1、pp. 6.13.1、John Wiley and Sons、Toronto、1991。

40

## 【0177】

50

抗原に対するT細胞クローニングの応答についてのアッセイ（これは、増殖およびサイトカイン産生を測定することによって、なかでも、APC-T細胞相互作用ならびに直接的なT細胞効果に影響を及ぼすタンパク質を特定する）には、限定されないが、下記に記載されるアッセイが含まれる：Current Protocols in Immunology, Ed by. J. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach, W Strober, pub. Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience (Chapter 3, In vitro assays for Mouse Lymphocyte Function; Chapter 6, Cytokines and their cellular receptors; Chapter 7, Immunologic studies in Humans); Weinberger et al. (1980), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 77:6091-95; Weinberger et al. (1981), Eur. J. Immunol. 11:405-11; Takai et al. (1986), J. Immunol. 137:3494-500; Takai et al. (1988), J. Immunol. 140:508-12。 10

【実施例】

【0178】

本発明を下記の非限定的な実施例においてさらに例示する。

【0179】

実施例1：マウスMU-1のcDNAの単離および特徴づけ

MU-1受容体のマウスホモログの部分フラグメントを、ヒト配列に由来するオリゴヌクレオチドを使用するPCRによって単離した。cDNAを、17日齢のマウスの胸腺から単離されたRNA、および、2D6 T細胞株から単離されたRNAから調製した。約300ヌクレオチドのDNAフラグメントを、図1におけるヒトcDNA配列（配列番号1に対応する）の領域584～603および領域876～896にそれぞれ対応する下記のオリゴヌクレオチドを用いたPCRによってcDNAから増幅した： 20

A G C A T C A A G C C G G C T C C C C C (5p) (配列番号11)

C T C C A T T C A C T C C A G G T C C C (3p) (配列番号12)

増幅を、94度1分間、50度1分間および72度1分間の30サイクルにわたって、1.5mMの塩化マグネシウムを含有する1XTaq緩衝液においてTaqポリメラーゼを使用して行った。このフラグメントのDNA配列を決定し、2つのオリゴヌクレオチドが、下記の配列を有するこのフラグメントの内部部分から得られた：

T T G A A C G T G A C T G R G G C C T T (5P) (配列番号13)

T G A A T G A A G T G C C T G G C T G A (3P) (配列番号14)

【0180】

これらのオリゴヌクレオチドを使用して、最初のPCR産物の262ヌクレオチドの内部フラグメント（図1におけるマウスcDNA配列（配列番号9）のヌクレオチド781～1043に対応する）を、2D6 T細胞株から単離されたcDNAライブラリーをスクリーニングするためのハイブリダイゼーションプローブとして使用するために増幅した。フィルターとして、標準的な5XSSCハイブリダイゼーション条件を使用して65度ハイブリダイゼーションし、SSCにおいて65度洗浄した。426,000個のクローニングのスクリーニングにおいてプローブにハイブリダイゼーションした20個のクローニングを単離した。DNA配列を2つの独立したクローニングから決定した。クローニング#6の全長配列がヒトMU-1の全長のマウスホモログ（配列番号9）であることが確認された。 30

【0181】

マウスMU-1の全長ヌクレオチド配列を図1に示す（これは配列番号9に対応する）。このヌクレオチド配列は、予測されるリーダー配列をヌクレオチド407～464に有し、コード配列をヌクレオチド407～1993に有し、終結コドンをヌクレオチド1994～1996に有する。ヌクレオチド1～406は5'非翻訳領域に対応し、ヌクレオチド1997～2628は3'非翻訳領域に対応する（配列番号9）。 40

【0182】

マウスMU-1の予測されるタンパク質配列を図2に示す（これは配列番号10に対応する）。このマウスMU-1タンパク質は、SPS can（スコア=10.1）によって決定された予測されるリーダー配列（配列番号10のアミノ酸1～19に対応する）、および、予測される膜貫通ドメイン（配列番号10のアミノ酸237～253に対応する）

を含有する。予測されるシグナル伝達モチーフには、図2Bにおける下記の領域が含まれる：Box1：配列番号10のアミノ酸265～274；Box2：配列番号10のアミノ酸310～324；配列番号10の281位、319位、361位、368位、397位および510位における6個のチロシン残基。潜在的なSTATドッキング部位には、STAT5：EDDGYP（配列番号20）、STAT3：YLQRが含まれる。

#### 【0183】

実施例2：ヒトMU-1およびマウスMU-1の比較

GAPアルゴリズムを使用して、ヒトMU-1およびマウスMU-1のアミノ酸配列を比較した。ヒトMU-1を、GenBankデータベースを検索するためのヒトIL-5受容体の70アミノ酸の領域（配列番号3）、ならびに、PCR用プライマー（配列番号4および配列番号5）およびハイブリダイゼーションオリゴヌクレオチド（配列番号6および配列番号7）を使用してクローニングした。マウスおよびヒトの予測されるタンパク質配列の比較を図4に示す。これらのアミノ酸は、GAPアルゴリズムを使用したとき、同一性が65.267%であった。アラインメントを、BLOSUM62アミノ酸置換行列（Henikoff and Henikoff(1992)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、89:10915-19）によって作製した。ギャップパラメーター=ギャップ加重：8、平均マッチ=2.912、長さ加重=2、平均ミスマッチ=-2.003；パーセント類似性=69.466。

10

#### 【0184】

ヒトおよびマウスのcDNAヌクレオチド配列の比較を図3に示す。これらのDNA配列は、GAPアルゴリズムを使用してアラインメントされたとき、同一性が66.116%である。ギャップパラメーター=ギャップ加重：50、平均マッチ=10.000、長さ加重=3、平均ミスマッチ=0.000；パーセント類似性=66.198。

20

#### 【0185】

ヒトMU-1タンパク質およびマウスMU-1タンパク質はともにI型サイトカイン受容体スーパーファミリーのメンバーである。マウスMU-1およびヒトMU-1の両方の配列を評価することにより、潜在的なBox-1およびBox-2のシグナル伝達モチーフの存在が明らかにされた。6個のチロシン残基が細胞質ドメインに存在し、これらもまた、MU-1のシグナル伝達機能において重要であり得る。MU-1の配列をこのファミリーの他のメンバーと比較することにより、STAT5およびSTAT3のための潜在的なドッキング部位の存在が示唆された。

30

#### 【0186】

実施例3：ヒトMU-1によって使用されるSTATシグナル伝達経路の決定

BAF-3細胞を、ヒトEPO受容体の細胞外ドメインおよびMU-1受容体の細胞内ドメインからなるキメラなサイトカイン受容体を発現するように操作した。h u E P O R J M U - 1 (cyt o)キメラ受容体を発現するBAF-3細胞を、ヒト可溶性EPOに対する応答で増殖させた。これらの細胞を、どのSTAT分子がEPOのシグナル伝達に応答してリン酸化されるかを明らかにするために分析した。簡単に記載すると、コントロールの未変化の親BAF-3細胞、および、EPOR/MUキメラBAF-3細胞をIL-3含有の成長培地から休止させ、IL-3またはEPOのいずれかで、0分間、15分間、30分間および60分間、再び刺激した。細胞をペレット化し、リン酸化されたチロシンを保護するためにオルトバナジン酸塩を含有する氷冷した溶解緩衝液に再懸濁した。等量の細胞溶解物をウエスタン分析のためにSDS-PAGEによって電気泳動し、二トロセルロースメンブランにプロットした。二連のプロットを、STAT分子の各形態について特異的な抗体を使用することによって、STAT1、STAT3、STAT5およびSTAT6のリン酸化形態および非リン酸化形態について染色した。HELA細胞（非活性化細胞、および、-インターフェロンにより活性化された細胞）を陽性コントロールとして使用した。

40

#### 【0187】

これらの結果は、これらの特定の条件のもとでは、MU-1を介するシグナル伝達が、調べられたすべての時点（T=0、T=15'、T=30'、T=60'）でSTAT5

50

のリン酸化をもたらしたことを示していた。IL-3によるコントロールまたはキメラBAF-3細胞の処置は、STAT1またはSTAT5のリン酸化ではなく、STAT3のリン酸化をもたらした。

【0188】

実施例4：マウスMU-1およびヒトMU-1の組織発現

実施例4.1：ノーザン分析

様々な組織に由来するポリA+RNA (CloneTech, Palo Alto, CA) のノーザンプロットを製造者によって推奨されるように行った。マウスのプロットについては、図1および配列番号9のヌクレオチド781～1043に対応する262ヌクレオチドのフラグメントをハイブリダイゼーションのために使用した。

10

【0189】

マウスMU-1の1種類だけの転写物が、成体マウスの脾臓、肺および心臓の組織において検出された。ヒト組織において認められたより大きな転写物はマウス組織では認められなかった。

【0190】

ヒトMU-1の2つの転写物が、成人のリンパ系組織、PBL、胸腺、脾臓およびリンパ節において、また、胎児の肺において検出された。

【0191】

実施例4.2：インシトゥーハイブリダイゼーション

インシトゥーハイブリダイゼーション研究が (Lyons et al. (1990)、J. Cell. Biol. 111:2427～36の方法に従って) Phylogeny Inc. (Columbus, OH) によって行われた。簡単に記載すると、連続した5ミクロン～7ミクロンのパラフィン切片を脱パラフィン化し、固定処理し、プロテイナーゼKで消化し、トリエタノールアミンにより処理し、脱水した。cRNAを、アンチセンスプローブおよびセンスプローブを作製するために線状化cDNAテンプレートから調製した。cRNA転写物を製造者 (Ambion) の条件に従って合成し、<sup>35</sup>S-UTPにより標識した。切片を一晩ハイブリダイゼーションし、ストリッピング条件のもとで洗浄し、RNase Aにより処理し、核トラック (track) エマルションに浸し、2週間～3週間感光した。手順のバックグラウンドレベルを示すために、コントロールの切片をセンスプローブとハイブリダイゼーションさせた。マウスプローブは、ヌクレオチド860～1064 (配列番号9) に対応する186bpのフラグメントからなった。ヒトプローブは、ヒトMU-1DNAから作製された23bpのPCR産物であった。

20

【0192】

マウスのMU-1発現が胚中心における成体小腸のリンパ節において認められた。特殊化したリンパ節およびパイエル板もまたマウスMU-1の発現を示した。

【0193】

ヒトMU-1の発現が皮質におけるリンパ節の胚中心において検出された。マクロファージを含有する髄質はヒトMU-1について陰性であった。ヒト脾臓では、ヒトMU-1の発現が、赤色脾臓ではなく、白色脾臓の領域において検出された。

【0194】

実施例5：細胞および細胞株におけるヒトMU-1の発現

RNase保護分析を、休止および活性化されたヒトT細胞およびB細胞株 (RajiおよびRPMI8866) ならびにT細胞株 (Jurkat) に対して行った。ヒトT細胞を抗CD3および抗CD28により活性化した。細胞株をホルボールエステルおよびイオノマイシンによって活性化した。MU-1リボプローブを產生するプラスミドを、23bpのPCR産物 (PCRを、5'プライマーのCACAAAGCTTCAGTATGAGCTGCAGTACAGGAACCGGGGA (配列番号15) および3'プライマーのCACAGGATCCCTTTAACCTCCCTGACTGGGTCCTGAAAGAT (配列番号16) を使用することによって行った) をpGEM3zf (-) (Promega, Madison, WI) ベクターのBamHI部位およびHindIII部位に

30

40

50

挿入することによって構築した。リボプローブを作製するために、リボプローブ産生プラスミドを Hind III で線状化した。得られたDNAをフェノール／クロロホルム抽出し、エタノールを用いて沈殿させた。T7 RNAポリメラーゼを使用して、リボプローブを販売者(PharMingen, San Diego, CA)によって提案されるプロトコルに従って作製した。RNase保護アッセイを、PharMingenのRIBOQUANT(商標)マルチプローブリボヌクレアーゼ保護アッセイシステムを使用することによって行った。2.0 μgの総RNAが各RPA反応液に含まれ、RNase消化後、保護されたリボプローブをQUICKPOINT(商標)迅速核酸分離システム(Novex, San Diego, CA)で泳動した。ゲルを販売者の提案に従って乾燥し、感光させた。

10

## 【0195】

ヒトMU-1のRNAが、刺激されていない集団と比較したとき、抗CD3+抗CD28刺激のヒト精製CD3+細胞ではアップレギュレーションされている。MU-1はまた、Th1およびTh2に傾斜しているT細胞集団では再刺激時にアップレギュレーションされる。B細胞株のRPMI8866およびRajiはMU-1を構成的に発現し、一方、Jurkat T細胞株はMU-1を発現しない。

## 【0196】

## 実施例6：既知のサイトカインに対するヒトMU-1の結合

MU-1に対するリガンドを特定するために、ヒトIg融合タンパク質およびマウスIg融合タンパク質の両方を構築し、Biacoreチップに固定化した。様々な細胞培養馴化培地、ならびに、一連の既知のサイトカインを、MU-1に対する結合について評価した。一部のサイトカインはまた、MU-1が第2の受容体鎖をリガンド結合のために要求しているかもしれないという可能性を検討するために、ファミリー内の他の受容体鎖との組合せでも調べた。下記のサイトカインが調べられ、MU-1との結合について陰性であることが見出された：mIL-2、hIL-2、hIL-15、mIL-7、TSLP、TSLP+IL-7、TSLP+IL-7R、TSLP+IL-7g、TSLP+IL-2、TSLP+IL-2+IL-2R<sub>beta</sub>、IL2-R<sub>beta</sub>、IL-2R<sub>gamma</sub>、IL-7R、IL-2+IL-2R<sub>beta</sub>、IL-2+IL-2R<sub>gamma</sub>、IL-15+IL-2R<sub>beta</sub>、IL-15+IL-2R<sub>gamma</sub>、IL-7+IL-2R<sub>gamma</sub>、IL-2+IL-7R、IL-15+IL-7R、IL-7+IL-7R。既知の受容体を同様に固定化し、MUFcとの結合について調べたが、結果は陰性であった。IL-15はIL-2R<sub>b</sub>に結合するが、IL-2R<sub>g</sub>またはMUFcには結合しない。

20

## 【0197】

実施例7：IL-21/IL-21R活性の阻害はコラーゲン誘導関節炎(CIA)マウスにおいて症状の重篤度を改善する

本実施例は、IL-21Rアンタゴニスト(例えば、IL-21R-Ig融合タンパク質(マウスIL-21RFcタンパク質または「muIL-21RFc」)または抗IL-21R抗体)がCIAマウスモデルにおいて症状を改善することを示す。

30

## 【0198】

オスのDBA/1(Jackson Laboratories, Bar Harbor, ME)マウスをすべての実験のために使用した。関節炎をウシのII型コラーゲン(Chondrex, Redmond, WA)の使用によって誘導した。ウシのII型コラーゲン(Chondrex)を0.1M酢酸に溶解し、1mg/mlのMycobacterium tuberculosis(H37RA株)を含有する等体積の完全フロイントアジュvant( Sigma)に乳化した。100 μgのウシコラーゲンを0日目に尾の基部に皮下注射した。21日目に、マウスに、等体積の不完全フロイントアジュvant( Sigma)と混合されている0.1M酢酸に100 μgのウシコラーゲンを含有する溶液を尾の基部に皮下注射した。未処理(naive)マウスには、コラーゲンを除いた注射液の同じセットを与えた。投薬プロトコルが図16に概略的に示される。MuIL-21RF

40

50

c を D B A マウスに予防的または治療的に投与した。治療的療法では、疾患がマウスにおいて 2 日間連続して認められたならば、処置を開始した。

【 0 1 9 9 】

マウスを疾患の進行について週に少なくとも 3 回モニターした。個々の肢に、下記の指標に基づく臨床スコアを割り当てた： 0 = 正常、腫れがない； 1 = 腫れた 1 本～ 2 本の指が付随する視認可能な紅斑、または、足首における軽度の腫れ； 2 = 顕著な紅斑、これは軽度～中程度の足の腫れおよび／または 2 本の腫れた指によって特徴づけられる； 3 = 足全体の広範囲の腫れ、すなわち、足関節または手関節に広がる； 4 = 腫れの消散、足の硬直；肢の使用が困難、または、関節の固縮。従って、任意の所与のマウスについてのすべての肢スコアの合計は 16 の最大全身スコアをもたらした。

10

【 0 2 0 0 】

様々な疾患段階で、動物を安楽死させ、組織を集め、足を組織学のためには 10 % ホルマリンにおいて固定処理し、または、インシトゥーハイブリダイゼーションのためには、4 % パラホルムアルデヒド (pH 7.47) において固定処理し、20 % EDTA (pH 8.0) において脱灰し、パラフィンに包埋した。光学顕微鏡を使用して、足を、関節炎の強さおよび程度を特徴づけるために 5 段階のスコア化法 (0～4) でスコア化した。炎症性浸潤物を、炎症に関係づけられる他の変化（例えば、パンヌス形成、滑膜の線維化、関節軟骨の侵食、および／または、軟骨下骨破壊）に加えてスコア化のために使用した。組織学悪性度を、個々の足の読み取りを使用して決定した： NAD = 0 または異常は何も認められない； 1 = 軽微～軽度； 2 = 軽度～中程度； 3 = 重度；および 4 = 顕著。

20

【 0 2 0 1 】

症状の重篤度における軽減が、コラーゲン追加投与の前日から開始して 1 日おきに腹腔内 (I P) 投与された mu IL - 21 RFC (100 μg または 200 μg) を使用する CIA マウスの予防的処置の後で認められた（データは示していない）。

【 0 2 0 2 】

処置後の日数の関数として半治療的 CIA マウスに対する mu IL - 21 RFC (200 μg / マウス、3 回 / 週) の効果が図 17 に示される。マウス Ig (200 μg / マウス、3 回 / 週) をコントロールとして使用した。重篤度スコアの減少が処置後 7 日目から始まることが示される。

30

【 0 2 0 3 】

これらの実験は、IL - 21 R アンタゴニスト（例えば、IL - 21 R - Ig 融合タンパク質）を CIA マウスに予防的または半治療的のいずれかで投与することにより、関節炎症状が著しく改善されたことを明らかにしている。

【 0 2 0 4 】

実施例 8 : IL - 21 R 転写物のインシトゥーハイブリダイゼーション

CIA マウスの関節炎足における IL - 21 R の mRNA の発現を明らかにした。アンチセンスマウス IL - 21 R リボプローブを使用した（図 18 A）；センスプローブを陰性コントロールとして使用した（図 18 B）。ジゴキシゲニン標識のプローブを、製造者によって記載されるように、DIG RNA 標識化ミックス (Roche Diagnostics, Mannheim, ドイツ) の使用により調製した。IL - 21 受容体 mRNA の発現が、マクロファージ、好中球、線維芽細胞、リンパ球の部分集団、滑膜細胞および上皮において検出された（図 18 A）。低下した染色が、コントロールの足において、または、センスプローブにより見られた（図 18 B）。mIL - 21 R mRNA 陽性の細胞は好中球 (N) およびマクロファージ (M) であった。インシトゥーハイブリダイゼーションにより、関節炎マウスの足における IL - 21 R の高まった発現が示される。

40

【 0 2 0 5 】

実施例 9 : IL - 21 / IL - 21 R 活性の阻害は HLA - B27 ラットモデルにおいて IBD 様症状を改善する

本実施例は、IL - 21 R アンタゴニスト（例えば、IL - 21 R - Ig 融合タンパク質（マウス IL - 21 RFC タンパク質または「mu IL - 21 RFC」）または抗 IL

50

- 21R抗体)がHLA-B27ラットモデルにおいてIBD様症状を改善することを示す。

#### 【0206】

マウスIL-21受容体-Fc融合ポリペプチド(MuIL-21RFc)を本明細書中に記載されるように作製し、HLA-B27ラットモデルにおいて腸の炎症を緩和するその能力について評価した。このモデルにおいて観測される腸の炎症は、いくつかの臨床的、組織学的および免疫学的な特徴をヒトでのIBDと共有するので、HLA-B27ラットモデルは、IBDの治療法を評価するために広範囲に使用されている(例えば、Elson et al. (1995)、Gastroenterology、109:1344-67;Blanchard et al. (2001)、European Cytokine Network、12:111-18;Kim et al. (1999)、Arch. Pharm. Res.、22:354-60に総説される)。例えば、HLA-B27ラットはヒト主要組織適合性複合体I対立遺伝子B27およびB2ミクログロブリン遺伝子の産物を過剰発現する。そのような遺伝子産物は慢性的な炎症性疾患(例えば、IBDなど)の発症に関連する。

10

#### 【0207】

本研究で利用されるラットは、持続した下痢の臨床的徴候によって明らかであるように胃腸管(GI)の慢性的炎症を発症させた。便に、下記の指標に基づく臨床スコア(0~3)を割り当てた: 0=便ペレットが形成され、正常; 1=柔らかいが、便ペレットが形成される; 2=ゆるい、便ペレットの形成がない; および3=水様下痢(図19を参照のこと)。ラットを18日間モニターし、その間、便を疾患の進行について評価した。3の臨床スコアは、持続した下痢を示す(IgGコントロールとして示される)。MuIL-21RFcを、18日の期間にわたって、群あたり5匹のHLA-B27トランスジェニックラットに投与した(6mg/kg IP、週に3回)。別の一群には6mg/mlのmEnbrel(可溶性のTNF受容体Fc融合物)(陽性コントロール)を与えた。等しい数のマウスからなる第3の群にはIgGを同じ様式および投薬量でコントロールとして投与した。

20

#### 【0208】

臨床スコアの著しい減少が、IgGコントロールと比較して、MuIL-21RFcおよびmEnbrelにより処置された群において検出された(図19および図20を参照のこと)。MuIL-21RFcの投与は、IBD様症状を改善することにおいてmEnbrelに類似する効力を示した。この研究から得られる結果は、MuIL-21RFcの投与により、コントロールのIgGが投与されたラットに対して、腸の炎症がHLA-B27ラットモデルではmEnbrelと類似する効力で減少することを明らかにしている(図19および図20を参照のこと)。

30

#### 【0209】

改善された便スコアに関して表される症状の緩和が組織学的分析によって確認された。MuIL-21RFcにより処置されたラットは、潰瘍形成、炎症、病変部深さおよび線維化に関して、コントロール(IgG)により処置されたラットよりも著しく低い疾患重篤度スコアを記録した(図21を参照のこと)。組織学的分析では、示されたように0~2または0~3の臨床スコアが割り当てられたが、この場合、より高いスコアはラットIBDモデルにおける増大した重篤度を示す。腸における炎症の著しい減少が、コントロールに対して、MuIL-21RFcおよびmEnbrelにより処置された群で調べられたすべてのカテゴリーにおいて検出された。MuIL-21RFcは、疾患重篤度の組織学的徴候を改善することにおいてmEnbrelと類似する効力を示した。上記で示された結果をヒトに拡張することを裏付けるために、図19(右側パネル)には、正常なヒト腸のリンパ球およびリンパ節におけるMU-1 mRNAのインシトウーハイブリダイゼーションが示され、これは、疾患に関連した器官におけるMU-1のmRNAの発現を示している。

40

#### 【0210】

実施例10: IL-21/IL-21R活性の阻害はマウスにおいて同種皮膚移植片の拒絶を遅らせる

50

本実施例は、IL-21Rアンタゴニスト（例えば、IL-21R-Ig融合タンパク質（マウスIL-21RFcタンパク質または「muIL-21RFc」）または抗IL-21R抗体）がマウスにおいて同種皮膚移植片の拒絶を遅らせ、従って、移植組織片の生存を延ばすことを示す。

【0211】

MuIL-21RFcの投与は、レトロウイルスにより形質導入されたT細胞が注入されたマウスにおいて同種皮膚移植片の拒絶を遅らせることが示された。図22は、養子移入後の日数に対する移植片の生存率を示すグラフを示す。このモデルでは、ヌードマウスは検出可能なT細胞を有しないので、治癒した同種皮膚移植片を示す。コントロールのGFPまたはIL-21を分泌するようにレトロウイルスにより操作されている活性化されたB6T細胞がヌードマウスに注入されたとき、移植片が拒絶された（図22を参照のこと）。T細胞が、MuIL-21RFc（これにより、これらの細胞によって作製されたIL-21が中和されることが予想される）を分泌するように操作された場合、移植片は、図22に示されるように長期間にわたって生存した（このことは、GFPおよびIL-21のコントロールと比較して、IL-21R-Fcによって示される）。10匹のマウスをGFPおよびMuIL-21RFcのためにそれぞれ使用し、15匹のマウスをIL-21コントロールのために使用した。これらの結果は、移植片の生存を延長させることにおけるIL-21Rアンタゴニストについての役割を明らかにしている。

10

【0212】

実施例11：IL-21/IL-21R活性の阻害はCD45RB<sup>hi</sup>養子移入モデルにおいて疾患症状を軽減する

20

本実施例は、IL-21Rアンタゴニスト（例えば、IL-21R-Ig融合タンパク質（マウスIL-21RFcタンパク質または「muIL-21RFc」）または抗IL-21R抗体）が乾癬および炎症性腸疾患（IBD）のマウスモデルにおいて症状を改善することを示す。

【0213】

重症複合免疫不全症（SCID）マウスへのCD45RB<sup>hi</sup> CD4<sup>+</sup>未感作T細胞の移入は、ケージ飼育条件に依存して、大腸炎、および/または、乾癬に類似する皮膚病変をもたらす。BALBc CD45RB<sup>hi</sup> CD4<sup>+</sup>T細胞（未感作集団）を、最初にCD4<sup>+</sup>T細胞についてカラムでのネガティブ選択によって脾臓細胞から分取し、その後、高いCD45発現について選択するフローサイトメトリーによってさらに分取した。この集団の4×10<sup>5</sup>個の細胞をメスのC.B-17 SCIDマウスに移入し、マウスを乾癬およびIBDの臨床的徵候について数週間にわたってスコア化した。静的なケージ条件のもとで飼育されたマウスが炎症性腸疾患を発症し、空気流の変化を伴う通常の条件のもとで飼育されたマウスはまた乾癬を発症する。マウスを1~6のスケールで乾癬についてスコア化した：1=軽度、中程度の紅斑（通常、まぶたおよび耳）、身体の2%未満；2=軽度の鱗屑および中程度~重度の紅斑（通常、耳および顔）、身体の2%~10%；3=重度の紅斑および鱗屑（耳、顔および体躯）、身体の10%~20%；4=身体の20%~40%にわたる非常に重度の紅斑；5=身体中（身体の40%~60%）にわたる非常に重度の紅斑；6=身体中（身体の60%~100%）にわたる非常に重度の紅斑。マウスを体重減少および便スコア（0=正常；1=軟便；2=下痢；3=血液および粘膜を含有する下痢）によってIBDについてスコア化した。

30

【0214】

muIL-21RFcを使用する処置は、乾癬様症状を改善することにおいて効果的であった。皮膚の炎症を発症したマウスでは、CD45RB<sup>hi</sup>細胞移入後8週間で開始した200μgのmuIL-21RFcを用いた腹腔内注射（週に3回）による処置は、抗E.tenella Igにより処置されたコントロールマウスと比較したとき、低下した紅斑、鱗屑および脱毛をもたらした（図23）。200μgのmuIL-21RFcを細胞移入時に週に3回用いたCD45RB<sup>hi</sup>レシピエントマウスの処置は、コントロールと比較して、実験経過中、乾癬の遅れた発症、および、あまり重症でない臨床的疾患をもた

40

50

らした(図35)。実験の結果が図36にまとめられる。

【0215】

*muIL-21RFc*を使用する処置はまた、炎症性の腸症状を改善することにおいて効果的であった。200μgまたは400μgの*muIL-21RFc*を細胞移入時に週に3回用いたCD45RB<sup>hi</sup>レシピエントマウスの処置は、Igコントロールにより処置されたマウスと比較したとき、体重減少(図37)および便スコア(図38)によって測定されるような大腸炎の臨床徵候の著しい軽減をもたらした。結果が図39にまとめられる。コントロール処置のCD45RB<sup>hi</sup>レシピエントに由来する結腸の顕微鏡評価では、*muIL-21RFc*により処置されたマウスではほぼ完全に抑制された重度の肥厚化および腫れが示された。微視的には、コントロール処置マウスはまた、*muIL-21RFc*処置マウスと比較したとき、より大きな程度の上皮過形成および白血球浸潤を粘膜固有層/粘膜下組織に示した。加えて、血清サイトカインをコントロール処置マウスおよび*muIL-21RFc*処置マウスから測定した。測定されたいくつかのサイトカインのなかで、ガンマ型インターフェロン(IFN- $\gamma$ )のみが血清において検出可能であった。200μgまたは400μgの用量での*muIL-21RFc*による処置は、Igコントロール処置マウスと比較したとき、IFN- $\gamma$ の著しく低下した血清レベルをもたらした(図40)。IFN- $\gamma$ は、IBDにおけるIL-21Rアンタゴニスト効力についてのバイオマーカーとして使用することができる。

10

【0216】

CD45RB<sup>hi</sup>(未感作)サブセットおよびCD45RB<sup>lo</sup>(記憶)サブセットを、IL-21に対するそれらの応答について増殖アッセイによって調べた。IBD移入モデルにおいて、未感作細胞のみが疾患を引き起こし、疾患が記憶集団の添加によって抑制され得る。このアッセイでは、純化された集団がプレート結合の抗CD3により刺激され、IL-21に対する応答での<sup>3</sup>H-チミジン取り込みについて調べられた。未感作集団は、記憶集団と比較して、IL-21に対する著しく増大した応答を示した(図41)。このことは、IL-21がインビボでのこの集団の拡大のための重要なサイトカインであることを示唆する。

20

【0217】

培養中の活性化されたCD4<sup>+</sup>CD45RB<sup>hi</sup>細胞へのIL-21の添加は多数のサイトカインの分泌を誘導した。抗CD3刺激のCD45RB<sup>hi</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞を、100ユニット/m1のIL-2、あるいは、1ng/m1、10ng/m1または100ng/m1のIL-21により処置した。IL-21に対する応答において、CD45RB<sup>hi</sup>細胞は、増大したレベルのIL-2、IL-4、IL-10、IL-17、IL-18、IL-22、IFN- $\gamma$ およびTNF- $\alpha$ を分泌した(図42)。50μg/m1または100μg/m1の*muIL-21RFc*の添加による内因性IL-21の遮断は、Igコントロールにより処置された培養物と比較して、これらの培養物では低下したレベルのサイトカインをもたらした(図43)。

30

【0218】

まとめると、これらの結果は、IL-21がこのモデルでの炎症応答における強力な潜在的作用因子であること、および、IL-21RアンタゴニストがTh1媒介の疾患(例えば、クローニ病および乾癬など)において治療的に有益であり得ることを示している。

40

【0219】

実施例12: IL-21Rを有しないマウスは抗原誘導による気道炎症の軽減を示す  
本実施例は、IL-21受容体を有しないトランスジェニックノックアウトマウス(IL-21R-/-)が抗原誘導による気道炎症および気道過剰応答性に対する著しく低下した応答を有することを示す。

【0220】

IL-21R-/-および野生型(WT+/+)のC57BL/6マウス(8週齢~12週齢)を、2.25mgのミョウバン(Alum Inject; Pierce)に乳化された20μgのOVAの腹腔内注射によって0日目および14日目に免疫化した。2

50

6日目、27日目および28日目に、気道をPBSにおける5%のOVAのエアロゾルにより30分間攻撃した。最後のOVA攻撃の48時間後、動物を、エアロゾル化されたメタコリンに対する肺の抵抗および動的コンプライアンスの変化について評価した。OVA感作およびOVA攻撃は、OVA感作されたPBS攻撃のWT+/+マウスと比較して、WT+/+マウスでは、メタコリンのエアロゾル化後の気道過剰応答性の著しい増大をもたらした(図24)。しかしながら、OVA感作/OVA攻撃のWT+/+マウスと比較したとき、全用量範囲にわたって、OVA感作/OVA攻撃のIL-21R-/-マウスでのエアロゾル化メタコリンに対する気道過剰応答性における違いはなかった(図24)。

## 【0221】

その後、肺の炎症、サイトカインレベル、ならびに、総IgE力価および抗OVA IgE力価の分析のために、動物を屠殺し、血液および気管支肺胞洗浄液(BALF)を集めた。BALFを3回の0.7mlのPBSによる気管支肺胞洗浄によって集めた。総BALF細胞数が、IL-21R-/-動物におけるPBS攻撃のコントロールの3倍の増大とは対照的に、PBS攻撃のコントロールと比較して、WT+/+マウスではOVA攻撃後、約36倍増大した(図25A)。さらに、OVA感作/OVA攻撃のIL-21R-/-マウスのBALFにおける総細胞数は、OVA感作/OVA攻撃のWT+/+動物において観測された総細胞数よりも著しく少なかった。OVA感作/PBS攻撃のIL-21R-/-マウスおよびWT+/+マウスでのBALF総細胞数における違いはなかった(図25A)。同じように感作され、しかし、PBSにより攻撃されたコントロールと比較して、OVA攻撃はWT+/+マウスおよびIL-21R-/-マウスの両方においてBALF好酸球の著しい増大をもたらした。BALF好酸球の絶対数は、OVA感作/OVA攻撃のWT+/+動物において観測される絶対数と比較して、IL-21R-/-動物では著しく低くなっていた(図25B)。IL-21Rの欠失はまた、OVA攻撃後、BALFのリンパ球(図25C)および好中球(図25D)の数の増大を著しく弱めていた。

10

20

30

## 【0222】

BALFにおけるIL-5、IL-13およびTNFのレベルが、PBS攻撃のコントロールと比較して、OVA感作/攻撃のWT+/+マウスでは著しく増大した(図26および図27)。対照的に、OVAによる感作および攻撃では、PBS攻撃のコントロールと比較したとき、IL-21R-/-マウスのBALFにおけるこれらのサイトカインのレベルの非常に穏やかな増大が誘導され、また、レベルは、OVA感作/OVA攻撃のWT+/+動物において観測されたレベルよりも著しく低かった(図26および図27)。BALFにおけるTNFおよびIL-5のレベルを、サイトメトリービーズアレイキット(Mouse Th1/Th2 Cytokine CBA、BD Biosciences、San Diego、CA)を使用して定量した。BALFにおけるIL-13のレベルをELISAによって定量した。

## 【0223】

図28A～図28Bに示されるように、IL-21R-/-におけるOVA感作/OVA攻撃後の血清中の総IgEレベルおよび抗OVA IgEレベルは、同じように処置されたWT+/+マウスと比較して、はるかに低かった。しかしながら、総IgEレベルおよびOVA特異的IgEレベルをPBS攻撃後と比較したとき、IL-21R-/-マウスおよびWT+/+マウスにおける著しい違いはなかった。

40

## 【0224】

これらの結果は、IL-21媒介による応答の阻害により、治療的価値がアレルギーおよび喘息の処置において提供され得ることを示唆する。

## 【0225】

実施例13：IL-21/IL-21R活性の阻害はMRL-FAS<sup>IP</sup>狼瘡モデルにおいて症状の重篤度を改善する。

本実施例は、IL-21Rアンタゴニスト(例えば、IL-21R-Ig融合タンパク

50

質（マウスIL-21RFcタンパク質または「muIL-21RFc」）または抗IL-21R抗体）がMRL-Fas<sup>1p</sup>マウスモデルにおいて全身性エリテマトーデス（SLE）様症状を改善することを示す。

【0226】

オスのMRL-Fas<sup>1p</sup>マウスをすべての実験のために使用した。このマウスは、DNA自己抗体、多数の組織の破壊、および、免疫複合体による糸球体腎炎をはじめとする、ヒトSLEに類似する多数の症状をもたらす。400 μgのMuIL-21RFcまたはイソタイプコントロールを、10週齢のときから初めて、週に3回、腹腔内注射し、マウスを疾患の進行について毎週分析した。15週で、マウスをさらなる分析のために屠殺した。各処置群は10匹のマウスを含有した。

10

【0227】

MuIL-21RFc処置は、ELISAによって測定されたとき、MRL-Fas<sup>1p</sup>マウスにおける、循環しているdsDNA自己抗体のレベル（図29）、および、血清中の総IgGのレベル（図30）を著しく低下させた。簡単に記載すると、抗dsDNA自己抗体の測定のために、dsDNAをタイタープレートに被覆し、血清抗体を加え、抗体を、抗マウス二次抗体を使用して検出した。総IgGの測定のために、血清をタイタープレートに付着させ、その後、抗マウス二次抗体を使用して検出した。

【0228】

MuIL-21RFcによる処置はまた、MRL-Fas<sup>1p</sup>マウスの腎臓におけるIgG沈着物の蓄積を低下させた。15週でマウスを屠殺し、凍結した腎臓切片（5 μm）をヤギ抗マウスIgG-FITCにより染色した。蛍光強度を0～3のスケールでスコア化した。図31は、処置マウスおよびコントロールマウスから得られた腎臓切片において測定された総蛍光強度を示す。

20

【0229】

これらの結果は、IL-21Rアンタゴニストによる治療的処置により、狼瘡様症状が改善され得ることを示す。

【0230】

実施例14：狼瘡およびGVHDの動物モデル：B6 bm12脾臓細胞が植え付けられたIL-21R欠損マウスの腎臓における自己抗体形成およびIgG沈着の非存在

実験を、全身性エリテマトーデス（SLE）の慢性的な移植片対宿主病（GVHD）モデルにおけるIL-21Rノックアウト（KO）マウスの応答を調べるために行った（Chen et al. (1998)、J. Immunol.、161:5880-85）。このモデルはSLEおよびGVHDの両方の代表的な側面を含む。

30

【0231】

使用された動物は、B6.C-H2<bm12>/KHEG（bm12）、Jackson Labs（脾臓細胞）；IL-21R-2 KOマウス、Charles River Labs（CRL）；C57/B6野生型（WT）マウス、Charles River Labs；およびC57/B6野生型マウス、Taconic（TAC）（Germantown, NY）であった。

【0232】

適切なドナーマウスをCO<sub>2</sub>暴露により疾患誘導の当日に屠殺した。脾臓を取り出し、覆った。赤血球を、脾臓あたり1mlの溶解溶液で0.16M NH<sub>4</sub>Cl : 0.17M TrisCl（9:1）を使用して、合計で5分間、時々混合しながら溶解した。細胞懸濁物を、トリパンブルーを使用して計数し、無菌のリン酸塩緩衝化生理的食塩水を使用して2×10<sup>8</sup>細胞/mlの最終濃度に調節した。その後、適切な細胞懸濁物の0.5mlを（下記の表2に示されるように）適切なレシピエントマウスに腹腔内注射した。その後、レシピエントマウスを尿タンパク質および体重増加/減少について毎週モニターした。2週間毎に、それぞれのマウスは後方の眼窩洞により採血され、血清をさらなる分析のために貯蔵した。ELISAアッセイを、二本鎖DNAに対する自己抗体の検出のために、（Zouali and Stollar (1986)、J. Immunol. Methods、90:105-10に記載されるように）

40

50

それぞれの時点で集められたすべての血清について行った。

【0233】

疾患誘導後12週で、各群からの動物の半数を安楽死させ、脾臓および両方の腎臓を採取した。左側の腎臓を10%非緩衝化ホルマリンに保存し(そのまま)、H&Eにより染色した。染色についてのスコア化を、Chen(Chen)ら(上掲)の方法に従って行った。スコアパラメーターには、血管周囲のリンパ球浸潤、間質のリンパ球浸潤、細胞過多、および、基底膜肥厚化が含まれた。右側の腎臓を長さ方向に切断し、各半分を包埋し、組織ブロックカセットにおいて側面を切り落とした。その後、右側の腎臓を、免疫沈着物(具体的には、IgG、IgMおよびC3)の存在について免疫組織化学的技術を使用して分析した。

10

【0234】

【表5】

表2

	群	ドナー	レシピエント	n
1	IL-21R KO	bm12	CRL IL-21R KO	8
2	CRL-GVHD(C-GVHD)	bm12	CRL B6	10
3	TAC-GVHD(T-GVHD)	bm12	TAC B6	10
4	CRL-コントロール(C-コントロール)	CRL B6	CRL B6	5
5	TAC-コントロール(C-コントロール)	TAC B6	TAC B6	5

20

【0235】

これらの実験からの結果が図44に示される。抗dsDNA自己抗体がどの時点でもIL-21Rノックアウトマウスのどれにも検出されなかった(図44A)。加えて、図44Bは、疾患誘導後20週で、IgG沈着が、GVHDマウスと比較したとき、IL-21R欠損マウスの腎臓において観測されないことを示す。従って、IL-21R欠損マウスはGVHD-SLEモデルでは自己抗体を生じさせず、また、IgG沈着物を腎臓において形成しない。従って、IL-21/IL-21Rアンタゴニストによる個体の処置はSLEおよびGVHDの両方に対する効果的な処置を提供し得る。

30

【0236】

本出願明細書を通して引用されるすべての参考文献、係属中の特許出願(米国特許出願第60/599,086号(2004年8月5日出願)および同第60/639,176号(2004年12月23日出願)を含む)、公開された特許出願(米国特許出願第2003/0108549号(2002年10月4日出願)を含む)および公開された特許の内容は本明細書により参照して組み込まれる。

30

【0237】

均等物

当業者は、本明細書中に記載される本発明の特定の実施形態の多くの均等物を認識するか、または、日常的に過ぎない実験を使用して確認することができる。そのような均等物は、請求項によって包含されることが意図される。

40

【図面の簡単な説明】

【0238】

【図1】図1は、マウスIL-21R/MU-1の全長のcDNA配列を示す。このヌクレオチド配列は配列番号9のヌクレオチド1~2628に対応する。

【図2A】図2A~2Bは、マウスIL-21R/MU-1およびヒトIL-21R/MU-1のアミノ酸配列を示す。図2AはマウスIL-21R/MU-1のアミノ酸配列(配列番号10のアミノ酸1~529に対応する)を示す。予測されるリーダー配列が10.1のスコアでアミノ酸1~19(SPScanによって予測された)に存在する(太字

50

）。予測される膜貫通ドメインが配列番号 10 のアミノ酸 237 ~ 253 (下線部) に存在する。予測されるシグナル伝達モチーフは下記の領域を含む：Box 1：アミノ酸 265 ~ 274 および Box 2：アミノ酸 310 ~ 324 (太字かつ下線部)；6 個のチロシンが、配列番号 10 のアミノ酸位置 281、319、361、368、397 および 510 に存在する。WSXWS モチーフ (配列番号 8) がアミノ酸残基 214 ~ アミノ酸残基 218 (大きい太字) に存在する。潜在的な STAT ドッキング部位は配列番号 10 のアミノ酸 393 ~ 398 およびアミノ酸 510 ~ 513 を含む。図 2B はヒト MU-1 のアミノ酸配列 (配列番号 2 に対応する) を示す。予測されるシグナル配列 (配列番号 2 のおよそアミノ酸 1 ~ 19)；WSXWS モチーフ (配列番号 2 のおよそアミノ酸 213 ~ 217)；および膜貫通ドメイン (配列番号 2 のおよそアミノ酸 236 ~ 252、236 ~ 253、236 ~ 254 (下線部)) の存在位置が示される。潜在的な JAK 結合部位、シグナル伝達モチーフおよび STAT ドッキング部位もまた示される。これらの部位のおおよその存在位置が四角で囲まれる。

【図 2B】図 2A ~ 2B は、マウス IL-21R / MU-1 およびヒト IL-21R / MU-1 のアミノ酸配列を示す。図 2A はマウス IL-21R / MU-1 のアミノ酸配列 (配列番号 10 のアミノ酸 1 ~ 529 に対応する) を示す。予測されるリーダー配列が 10.1 のスコアでアミノ酸 1 ~ 19 (SPScan によって予測された) に存在する (太字)。予測される膜貫通ドメインが配列番号 10 のアミノ酸 237 ~ 253 (下線部) に存在する。予測されるシグナル伝達モチーフは下記の領域を含む：Box 1：アミノ酸 265 ~ 274 および Box 2：アミノ酸 310 ~ 324 (太字かつ下線部)；6 個のチロシンが、配列番号 10 のアミノ酸位置 281、319、361、368、397 および 510 に存在する。WSXWS モチーフ (配列番号 8) がアミノ酸残基 214 ~ アミノ酸残基 218 (大きい太字) に存在する。潜在的な STAT ドッキング部位は配列番号 10 のアミノ酸 393 ~ 398 およびアミノ酸 510 ~ 513 を含む。図 2B はヒト MU-1 のアミノ酸配列 (配列番号 2 に対応する) を示す。予測されるシグナル配列 (配列番号 2 のおよそアミノ酸 1 ~ 19)；WSXWS モチーフ (配列番号 2 のおよそアミノ酸 213 ~ 217)；および膜貫通ドメイン (配列番号 2 のおよそアミノ酸 236 ~ 252、236 ~ 253、236 ~ 254 (下線部)) の存在位置が示される。潜在的な JAK 結合部位、シグナル伝達モチーフおよび STAT ドッキング部位もまた示される。これらの部位のおおよその存在位置が四角で囲まれる。

【図 3】図 3 は、ヒトおよびマウスの MU-1 の cDNA 配列 (配列番号 1 の核酸 1 ~ 2665 および配列番号 9 の核酸 1 ~ 2628 にそれぞれ対応する) の GAP 比較を示す。HuMU-1 = ヒト MU-1、murMU-1 = マウス MU-1。ギャップパラメーター：ギャップ加重 = 50、平均マッチ = 10.000、長さ加重 = 3、平均ミスマッチ = 0.000、パーセント同一性 = 66.116。

【図 4】図 4 は、ヒト MU-1 タンパク質 (配列番号 2 のアミノ酸に対応する) およびマウス MU-1 タンパク質 (配列番号 10 のアミノ酸に対応する) の GAP 比較を示す。アラインメントを BLOSUM62 アミノ酸置換行列 (Henikoff and Henikoff (1992)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、89:10915-19) によって作製した。ギャップパラメーター：ギャップ加重 = 8、平均マッチ = 2.912、長さ加重 = 2、平均ミスマッチ = -2.003、パーセント同一性 = 65.267。

【図 5】図 5 は、ヒト MU-1 のアミノ酸 (配列番号 2 に対応する)、マウス MU-1 のアミノ酸 (配列番号 10 に対応する) およびヒト IL-2 鎖のアミノ酸 (GENBANK (登録商標) アクセション番号 M26062) の多重配列アラインメントを示す。リーダードメインおよび膜貫通ドメインには下線が引かれる。保存されたサイトカイン受容体モジュールモチーフが太字によって示される。潜在的なシグナル伝達領域が下線付きの太字によって示される。

【図 6】図 6 は、MU-1 を介したシグナル伝達を示す。MU-1 はクローン E7 EPO-MU-1 キメラにおいて STAT5 をリン酸化する。実施例 3 に指定される条件のもとでは、MU-1 を介したシグナル伝達は、調べられたすべての時点で STAT5 のリン

酸化をもたらす。コントロールまたはキメラ B A F - 3 細胞の I L - 3 による処理では、S T A T 1 または S T A T 5 のリン酸化ではなく、S T A T 3 のリン酸化がもたらされた。

【図 7 A】図 7 A ~ 7 B は、ミツバチのリーダー配列および H i s 6 タグ（配列番号 2 3 のアミノ酸 1 ~ 4 4 ）にアミノ末端で融合されたヒト I L - 2 1 R モノマー（配列番号 2 のアミノ酸 2 0 ~ 2 3 5 に対応する）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 2 2 および配列番号 2 3 としてそれぞれ示される。

【図 7 B】図 7 A ~ 7 B は、ミツバチのリーダー配列および H i s 6 タグ（配列番号 2 3 のアミノ酸 1 ~ 4 4 ）にアミノ末端で融合されたヒト I L - 2 1 R モノマー（配列番号 2 のアミノ酸 2 0 ~ 2 3 5 に対応する）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 2 2 および配列番号 2 3 としてそれぞれ示される。

【図 8 A】図 8 A ~ 8 C は、ヒト免疫グロブリン G 1 ( I g G 1 ) F c 配列（配列番号 2 5 のアミノ酸 2 4 4 ~ 4 6 7 に対応する）にリンカー（配列番号 2 5 のアミノ酸 2 3 6 ~ 2 4 3 ）を介して C 末端で融合されたヒト I L - 2 1 R 細胞外ドメイン（配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 2 3 5 に対応する）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 2 4 および配列番号 2 5 としてそれぞれ示される。

【図 8 B】図 8 A ~ 8 C は、ヒト免疫グロブリン G 1 ( I g G 1 ) F c 配列（配列番号 2 5 のアミノ酸 2 4 4 ~ 4 6 7 に対応する）にリンカー（配列番号 2 5 のアミノ酸 2 3 6 ~ 2 4 3 ）を介して C 末端で融合されたヒト I L - 2 1 R 細胞外ドメイン（配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 2 3 5 に対応する）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 2 4 および配列番号 2 5 としてそれぞれ示される。

【図 8 C】図 8 A ~ 8 C は、ヒト免疫グロブリン G 1 ( I g G 1 ) F c 配列（配列番号 2 5 のアミノ酸 2 4 4 ~ 4 6 7 に対応する）にリンカー（配列番号 2 5 のアミノ酸 2 3 6 ~ 2 4 3 ）を介して C 末端で融合されたヒト I L - 2 1 R 細胞外ドメイン（配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 2 3 5 に対応する）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 2 4 および配列番号 2 5 としてそれぞれ示される。

【図 9 A】図 9 A ~ 9 C は、ヒト免疫グロブリン G 1 ( I g G 1 ) F c 配列（配列番号 2 7 のアミノ酸 2 4 4 ~ 4 6 7 に対応する）および H i s 6 配列タグ（配列番号 2 7 のアミノ酸 4 6 8 ~ 4 9 2 に対応する）にリンカー（配列番号 2 7 のアミノ酸 2 3 6 ~ 2 4 3 ）を介して C 末端で融合されたヒト I L - 2 1 R 細胞外ドメイン（配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 2 3 5 に対応する）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 2 6 および配列番号 2 7 としてそれぞれ示される。

【図 9 B】図 9 A ~ 9 C は、ヒト免疫グロブリン G 1 ( I g G 1 ) F c 配列（配列番号 2 7 のアミノ酸 2 4 4 ~ 4 6 7 に対応する）および H i s 6 配列タグ（配列番号 2 7 のアミノ酸 4 6 8 ~ 4 9 2 に対応する）にリンカー（配列番号 2 7 のアミノ酸 2 3 6 ~ 2 4 3 ）を介して C 末端で融合されたヒト I L - 2 1 R 細胞外ドメイン（配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 2 3 5 に対応する）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 2 6 および配列番号 2 7 としてそれぞれ示される。

【図 9 C】図 9 A ~ 9 C は、ヒト免疫グロブリン G 1 ( I g G 1 ) F c 配列（配列番号 2 7 のアミノ酸 2 4 4 ~ 4 6 7 に対応する）および H i s 6 配列タグ（配列番号 2 7 のアミノ酸 4 6 8 ~ 4 9 2 に対応する）にリンカー（配列番号 2 7 のアミノ酸 2 3 6 ~ 2 4 3 ）を介して C 末端で融合されたヒト I L - 2 1 R 細胞外ドメイン（配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 2 3 5 に対応する）のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。

10

20

30

40

50

ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 26 および配列番号 27 としてそれぞれ示される。

【図 10 A】図 10 A ~ 10 C は、ヒト免疫グロブリン G1 (IgG1) Fc 变異配列 (配列番号 29 のアミノ酸 244 ~ 467 に対応する) にリンカー (配列番号 29 のアミノ酸 236 ~ 243) を介して C 末端で融合されたヒト IL-21R 細胞外ドメイン (配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 235 に対応する) のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヒト Fc 配列は、Fc 受容体との結合を低下させるために、野生型配列から残基 254 および残基 257 において変異している。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 28 および配列番号 29 としてそれぞれ示される。

【図 10 B】図 10 A ~ 10 C は、ヒト免疫グロブリン G1 (IgG1) Fc 变異配列 (配列番号 29 のアミノ酸 244 ~ 467 に対応する) にリンカー (配列番号 29 のアミノ酸 236 ~ 243) を介して C 末端で融合されたヒト IL-21R 細胞外ドメイン (配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 235 に対応する) のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヒト Fc 配列は、Fc 受容体との結合を低下させるために、野生型配列から残基 254 および残基 257 において変異している。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 28 および配列番号 29 としてそれぞれ示される。

【図 10 C】図 10 A ~ 10 C は、ヒト免疫グロブリン G1 (IgG1) Fc 变異配列 (配列番号 29 のアミノ酸 244 ~ 467 に対応する) にリンカー (配列番号 29 のアミノ酸 236 ~ 243) を介して C 末端で融合されたヒト IL-21R 細胞外ドメイン (配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 235 に対応する) のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヒト Fc 配列は、Fc 受容体との結合を低下させるために、野生型配列から残基 254 および残基 257 において変異している。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 28 および配列番号 29 としてそれぞれ示される。

【図 11 A】図 11 A ~ 11 B は、ロドプシン配列タグに C 末端で融合されたヒト IL-21R 細胞外ドメイン (配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 235 に対応する) のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 30 および配列番号 31 としてそれぞれ示される。

【図 11 B】図 11 A ~ 11 B は、ロドプシン配列タグに C 末端で融合されたヒト IL-21R 細胞外ドメイン (配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 235 に対応する) のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 30 および配列番号 31 としてそれぞれ示される。

【図 12 A】図 12 A ~ 12 C は、EK 切断部位および変異 IgG1 Fc 領域 (配列番号 33 のアミノ酸 236 ~ 470 に対応する) に C 末端で融合されたヒト IL-21R 細胞外ドメイン (配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 235 に対応する) のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 32 および配列番号 33 としてそれぞれ示される。

【図 12 B】図 12 A ~ 12 C は、EK 切断部位および変異 IgG1 Fc 領域 (配列番号 33 のアミノ酸 236 ~ 470 に対応する) に C 末端で融合されたヒト IL-21R 細胞外ドメイン (配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 235 に対応する) のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 32 および配列番号 33 としてそれぞれ示される。

【図 12 C】図 12 A ~ 12 C は、EK 切断部位および変異 IgG1 Fc 領域 (配列番号 33 のアミノ酸 236 ~ 470 に対応する) に C 末端で融合されたヒト IL-21R 細胞外ドメイン (配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 235 に対応する) のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列が配列番号 32 および配列番号 33 としてそれぞれ示される。

【図 13 A】図 13 A ~ 13 B は、マウス免疫グロブリン G2a (IgG2a) に C 末端で融合されたマウス IL-21R 細胞外ドメインのヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド (ゲノム) 配列およびアミノ酸配列が配列番号 34 および配列番号 35 としてそれぞれ示される。

10

20

50

30

40

50

【図13B】図13A～13Bは、マウス免疫グロブリンG2a(IgG2a)にC末端で融合されたマウスIL-21R細胞外ドメインのヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド(ゲノム)配列およびアミノ酸配列が配列番号34および配列番号35としてそれぞれ示される。

【図14A】図14A～14Bは、Flag配列タグおよびHis<sub>6</sub>配列タグにC末端で融合されたマウスIL-21R細胞外ドメインのヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド(ゲノム)配列およびアミノ酸配列が配列番号36および配列番号37としてそれぞれ示される。

【図14B】図14A～14Bは、Flag配列タグおよびHis<sub>6</sub>配列タグにC末端で融合されたマウスIL-21R細胞外ドメインのヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド(ゲノム)配列およびアミノ酸配列が配列番号36および配列番号37としてそれぞれ示される。

【図15A】図15A～15Bは、Flag配列タグおよびHis<sub>6</sub>配列タグにC末端で融合された(ミツバチリーダー)マウスIL-21R細胞外ドメインのヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド(ゲノム)配列およびアミノ酸配列が配列番号38および配列番号39としてそれぞれ示される。

【図15B】図15A～15Bは、Flag配列タグおよびHis<sub>6</sub>配列タグにC末端で融合された(ミツバチリーダー)マウスIL-21R細胞外ドメインのヌクレオチド配列およびアミノ酸配列のアラインメントを示す。ヌクレオチド(ゲノム)配列およびアミノ酸配列が配列番号38および配列番号39としてそれぞれ示される。

【図16】図16は、コラーゲン誘導関節炎(CIA)マウスモデルを使用する実験についての予防的処置、治療的処置および半治療的処置をまとめた予定表である。

【図17】図17は、半治療的CIAマウスに対するMuIL-21RFC(200μg/マウス、3回/週)の影響を処置後日数の関数として示すグラフである。マウスIg(200μg/マウス、3回/週)をコントロールとして使用した。

【図18】図18A～図18Bは、陰性コントロール(パネルB)と比較して、CIAマウス(パネルA)の関節炎足におけるIL-21RのmRNAの増大した発現を示す写真である。

【図19】図19は、IgGコントロールと比較して、muIL-21RFCおよびmEnbre1により処置されたラットにおけるIBD様症状の臨床スコアの顕著な減少を示す線グラフを示す。図19の左パネルは、正常なヒト腸のリンパ球およびリンパ節におけるMU-1 mRNAのインシトゥー(in situ)ハイブリダイゼーションを示す写真である。

【図20】図20は、IgGコントロールと比較して、muIL-21RFCおよびmEnbre1により処置されたラットにおけるIBD様症状の臨床スコアの顕著な減少を示す線グラフを示す。

【図21】図21は、MuIL-21RFC投与後のラットIBDモデルにおける疾患重度の組織学的スコア化の減少をまとめた表である。

【図22】図22は、IL-21、muIL-21RFCまたはコントロール(GFP)を発現するレトロウイルス形質導入T細胞が注射されたマウスにおける養子移入後の日数に対する移植片生存率を示す線グラフである。

【図23】図23は、MuIL-21RFC投与後のCD45RBhigh養子移入モデルでの乾癬病変部における臨床スコアの改善を示す線グラフである。図23の左側はMuIL-21RFCによる処置の前後におけるマウスの写真を示す。

【図24】図24は、リン酸塩緩衝化生理的食塩水(PBS)またはOVAのいずれかにより攻撃されたオバルブミン(OVA)感作マウスの気道過剰応答レベル(AHR)を示す線グラフである。マウスに、連続的に増大する用量のメタコリンを投与した。Penh(増強ポーズ)変化はAHRの指標である。

【図25】図25A～25Dは、PBSまたはOVAのいずれかにより攻撃されたOVA感作マウスの気管支肺胞洗浄液(BALF)における細胞数を示す棒グラフである。図2

10

20

30

40

50

5 A は B A L F 細胞総数を示す。図 25 B は B A L F における好酸球数を示す。図 25 C は B A L F におけるリンパ球数を示す。図 25 D は B A L F における好中球数を示す。白棒は P B S 攻撃の W T マウスを示す。黒塗り棒は O V A 攻撃の W T マウスを示す。灰色棒は P B S 攻撃の I L - 2 1 R - / - マウスを示す。斜線付き棒は O V A 攻撃の I L - 2 1 R - / - マウスを示す。\* は、Mann - Whitney U 検定によって決定されたとき、 $p < 0.05$  であることを示す。

【図 26】図 26 は、O V A により攻撃された O V A 感作マウスの B A L F におけるサイトカインのレベルを示すグラフである。図 26 は、T N F および I L - 5 のレベルを示す。白棒は P B S 攻撃の W T マウスを示し、黒塗り棒は O V A 攻撃の W T マウスを示し、灰色棒は P B S 攻撃の I L - 2 1 R - / - マウスを示し、斜線付き棒は O V A 攻撃の I L - 2 1 R - / - マウスを示す。\* は、Mann - Whitney U 検定によって決定されたとき、 $p < 0.05$  であることを示す。  
10

【図 27】図 27 は、O V A により攻撃された O V A 感作マウスの B A L F におけるサイトカインのレベルを示すグラフである。図 27 は、I L - 1 3 のレベルを示す。白棒は P B S 攻撃の W T マウスを示し、黒塗り棒は O V A 攻撃の W T マウスを示し、灰色棒は P B S 攻撃の I L - 2 1 R - / - マウスを示し、斜線付き棒は O V A 攻撃の I L - 2 1 R - / - マウスを示す。\* は、Mann - Whitney U 検定によって決定されたとき、 $p < 0.05$  であることを示す。

【図 28】図 28 A ~ 28 B は、O V A または P B S により攻撃された O V A 感作マウスの血清 I g E レベルを示す棒グラフである。図 28 A は総血清 I g E レベルを示す。図 28 B は抗 O V A 特異的 I g E レベルを示す。白棒は P B S 攻撃の W T マウスを示し、黒塗り棒は O V A 攻撃の W T マウスを示し、灰色棒は P B S 攻撃の I L - 2 1 R - / - マウスを示し、斜線付き棒は O V A 攻撃の I L - 2 1 R - / - マウスを示す。\* は、Mann - Whitney U 検定によって決定されたとき、 $p < 0.05$  であることを示す。  
20

【図 29】図 29 A ~ 29 D は、M u I L - 2 1 R F c またはコントロールによる処置の後での M R L - F a s <sup>1P</sup> マウスにおける循環している d s D N A 自己抗体のレベルを示すグラフである。図 29 A は I g G 1 のレベルを示す。図 29 B は I g G 2 a のレベルを示す。図 29 C は I g G 2 b のレベルを示す。図 29 D は I g G 3 のレベルを示す。\* は、Mann - Whitney U 検定によって決定されたとき、 $p < 0.05$  であることを示す。  
30

【図 30】図 30 A ~ 30 D は、M u I L - 2 1 R F c またはコントロールによる処置の後での M R L - F a s <sup>1P</sup> マウスにおける循環している総 I g G を示すグラフである。図 30 A は I g G 1 のレベルを示す。図 30 B は I g G 2 a のレベルを示す。図 30 C は I g G 2 b のレベルを示す。図 30 D は I g G 3 のレベルを示す。\* は、Mann - Whitney U 検定によって決定されたとき、 $p < 0.05$  であることを示す。

【図 31】図 31 は、ヤギ抗マウス I g G - F I T C により染色されたマウス腎臓切片における蛍光レベルを示すグラフである。

【図 32】図 32 は、免疫応答に対する I L - 2 1 の例示的影響を示す概略図である。  
【図 33】図 33 は、I L - 2 1 / I L - 2 1 R 経路を阻害するための例示的な戦略を示す概略図である。

【図 34】図 34 は、例示的な可溶性 I L - 2 1 R F c 受容体融合タンパク質を示す概略図である。

【図 35】図 35 は、E . t e n e l l a (「E t e n e l l a」) により刺激されたマウスの M u I L - 2 1 R F c 処置群およびコントロール処置群の平均乾癬スコアを示す線グラフである。

【図 36】図 36 は、コントロール処置マウスと比較される、M u I L - 2 1 R F c により処置された E . t e n e l l a 刺激マウスにおける乾癬の症状の発症遅延および軽減をまとめた表である。

【図 37】図 37 は、コントロール処置マウスと比較される、M u I L - 2 1 R F c により処置された E . t e n e l l a 刺激マウスにおける体重減少の減少を示す線グラフであ  
40  
50

る。体重指数は、初期体重に対する測定された体重の比率として定義される。

【図38】図38Aは、コントロール処置マウスと比較される、MuIL-21RFCにより処置されたE.tene11a刺激マウスにおける平均便スコアの減少を示す線グラフである。図38Bは、移入後77日目における各処置群の個々のE.tene11a刺激マウスの便スコアを示すグラフである。

【図39】図39は、図38Aに示されるデータをまとめた表である。

【図40】図40Aは、コントロール処置マウスと比較される、MuIL-21RFCにより処置されたE.tene11a刺激マウスにおける血清IFN- $\gamma$ レベルを示すグラフである。図40Bは、コントロール処置マウスと比較される、MuIL-21RFCにより処置されたE.tene11a刺激マウスについての便スコアを示すグラフである。

【図41】図41は、IL-21による処置の後における活性化されたCD45RB<sup>hi</sup>細胞およびCD45RB<sup>lo</sup>細胞への<sup>3</sup>H-チミジン取り込みを示す線グラフである。

【図42A】図42A～Bは、IL-21処置後の活性化されたCD45RB<sup>hi</sup>細胞によるサイトカイン分泌の増大を示す棒グラフである。

【図42B】図42A～Bは、IL-21処置後の活性化されたCD45RB<sup>hi</sup>細胞によるサイトカイン分泌の増大を示す棒グラフである。

【図43】図43は、MuIL-21RFCによる処置の後での活性化されたCD45RB<sup>hi</sup>細胞によるサイトカイン分泌の減少を示す棒グラフである。

【図44A】図44A～Bは、SLEのGVHDモデルにおいて、B6bm12脾臓細胞が植え付けられたIL-21Rノックアウトマウスは抗dsDNA自己抗体を作製しないこと(A)、および、IgG堆積がこれらのマウスの腎臓において観測されないこと(B)を示す棒グラフ(A)および散布図(B)である。

【図44B】図44A～Bは、SLEのGVHDモデルにおいて、B6bm12脾臓細胞が植え付けられたIL-21Rノックアウトマウスは抗dsDNA自己抗体を作製しないこと(A)、および、IgG堆積がこれらのマウスの腎臓において観測されないこと(B)を示す棒グラフ(A)および散布図(B)である。

10

20

【 図 1 】

【 図 2 A 】

1	MPRCVWALL LILURGASC 1DTCYDTOL 1TTCVLETR SPMPSTLSLT
51	WODETEELOD QETTCISLHS GHTHTHINT CHNRLSOSFLS DEVITVNNVTO
101	OSNHNSDCEG SPVLAESKIP APPNNTVNP SCYDLSIDS AYDEPSYVIL
151	RKGVLOEYQ RHLDPHAR PVTKLSSVS RNSLSEPEP RHDSEYLOV
201	RAPRGTCSF RGTNSWNSDP VFTOTGCEP EAGDHPHIL LLAVLIVLY
251	EMGLAKHIMH RUMQDNTNAPY VPTPESFFOL TREHNSNFTK WNTTFETASS
301	1ELVPOSSTT <u>TSAMMELSYL</u> AGENKFCPQ GLEOLECDG MSEPHNHCJ1
351	PLAQRGAVSA YSEEDRPIG LYSTUDTVG DAEGLCWPC SCEDGYPAM
401	NLDNGRESGP NSEDILAVTD PATISCCVS GSGLRIGESP GSLLDRILS
451	FAKEGMPAD PTHRIGSPGG GSESEANSPP GLDMDTFSG FNGSDGCSPV
501	ETDGFPRSY LARQMVHTPP PVUSGROSS

【 义 2 B 】

シグナル 配列	MPRGWAAPLLLGGGGWC POLCYTDDYL QTVICLEMW NLHPSTLLT	151 KGKLOYL RNRDPIWAS PRKLUVOS RVSLLPLEF RKSSEYLOV	TM	Box 1 推定される JAK結合部位
	51 WDDOYEELKD EATCSLHRS AHNATHATT CHMDVFFHNA DIFDS/NTD	201 RAGFMPGSSY QGTWSESDP VIFQOSEEL KEGWNPHLU LLLVIVIE		Box 2 推定される シグナル伝 モーティフ
	101 OSGNYSOEGC SPILLASISKPK APPENVTYI SGQYNSWRS DYEDPAFYM	251 AE/SLKLTHPL WRWVKKWVY PSEBFMPL YKGGSGDGFKA WVGAPPFTGS		
	151 KGKLOYL RNRDPIWAS PRKLUVOS RVSLLPLEF RKSSEYLOV	301 LEIGPvSPEVTEVSYCH-PRSPAKRLA LTELQEPATL TESDGPYPS		
	201 RAGFMPGSSY QGTWSESDP VIFQOSEEL KEGWNPHLU LLLVIVIE	351 FWPTAQNSSG SAYKEERDHP YGLVSDTTT VLDAGEPTW PSOSEDGYP		
	251 AE/SLKLTHPL WRWVKKWVY PSEBFMPL YKGGSGDGFKA WVGAPPFTGS	401 ALCDAGLEP SPGEGLPLD AGTYYLSSGC VSAGSPGLG PIGSLDLRK		
	301 LEIGPvSPEVTEVSYCH-PRSPAKRLA LTELQEPATL TESDGPYPS	451 PLADGEDWA GGLPGGGFRSP GGVSESEAGS PLACLDMDTT DSGFVGSDCS		
	351 FWPTAQNSSG SAYKEERDHP YGLVSDTTT VLDAGEPTW PSOSEDGYP	501 SPVCDFTSP GDEGPPRSTL QWVWVPPPL SSGQPOAS		
	401 ALCDAGLEP SPGEGLPLD AGTYYLSSGC VSAGSPGLG PIGSLDLRK	551 PLAGGEDWA GGLPGGGFRSP GGVSESEAGS PLACLDMDTT DSGFVGSDCS		
	451 PLADGEDWA GGLPGGGFRSP GGVSESEAGS PLACLDMDTT DSGFVGSDCS	601 SPVCDFTSP GDEGPPRSTL QWVWVPPPL SSGQPOAS		
	501 SPVCDFTSP GDEGPPRSTL QWVWVPPPL SSGQPOAS	651 PLAGGEDWA GGLPGGGFRSP GGVSESEAGS PLACLDMDTT DSGFVGSDCS		

( 3 )

【図4】

【 図 5 】

【図 6】

Western blot analysis of pSTAT5 and STAT5 expression in HeLa cells treated with 15 nM EPO for 0, 3, and 15 minutes. The blot shows bands for pSTAT5 (phospho-STAT5), STAT5, and STAT5 (loading control). The pSTAT5 band is prominent in the 15 min lane, while STAT5 bands are visible in all lanes.

【圖/A】

【 図 7 B 】

【 図 8 A 】

【 図 8 B 】

【図8C】

```

ccc tcc ctc tcc ctc aag cat gag tct ctc cac aac cac tac aac gag cgg aag aac
435 Ser Val Val Met His Asp Leu His Asn Asp Tyr Thr Gin Lys Ser
450
ccc tcc ctc tcc ctc aag cat gag tct ctc cac aac cac tac aac gag cgg aag aac
465 Leu Ser Leu Ser 24 SEQ ID NO: 25
470
ccc tcc ctc tcc ctc aag cat gag tct ctc cac aac cac tac aac gag cgg aag aac
485 Leu Ser Leu Ser 165 SEQ ID NO: 25
490

```

【 図 9 A 】

【図9B】

【 図 9 C 】

【図10A】

1	98	98
1	10	10
1	135	135
1	15	15
1	170	170
1	194	194
1	20	20
1	242	242
1	25	25
1	290	290
1	318	318
1	335	335
1	366	366
1	434	434
1	440	440
1	462	462
1	530	530
1	578	578
1	676	676
1	674	674

【 义 1 0 B 】

【 図 1 0 C 】

【 义 1 1 A 】

【 図 1 1 B 】

【図 1 2 A】

【図12B】

【 図 1 2 C 】

【図 13A】

【図13B】

【 図 1 4 A 】

【図14B】

【図15A】

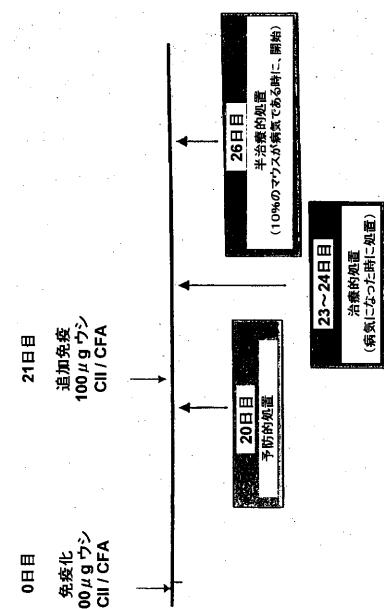
【図 15 B】

```

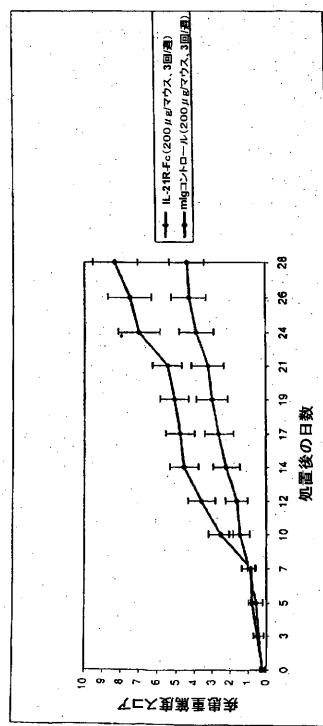
gtg cgt gca gtc ccc cca ggc act tca ttc agg ggg acc tgg agt
val Arg Ala Ala Pro Gln Pro Thr Ser Phe Arg Gly Thr Tyr Ser
220 230 240
gac tgg act gac ccc atc ttt ccc gag ggg ggg ccc ggg ggg
Gln Tyr Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln Asp Gln Gln Pro
245 250 255 260
gca ggg tgg gac tggatggatcc seq id no: 38
Ala Gln Tyr Seq id no: 39
265

```

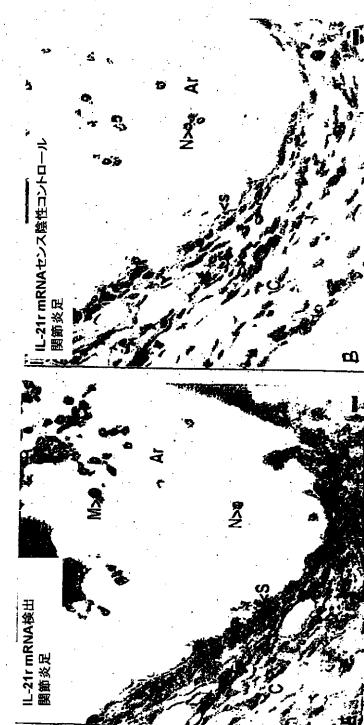
【図 16】



【図 17】

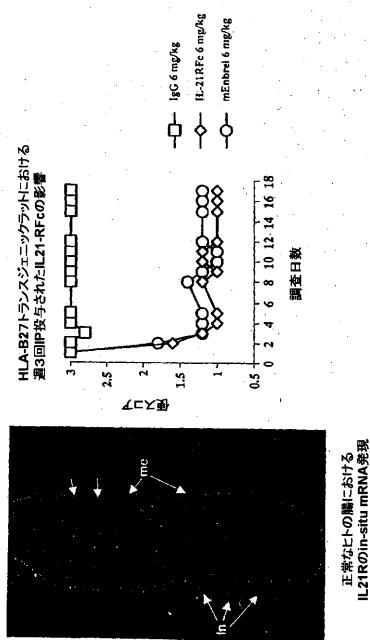


【図 18】



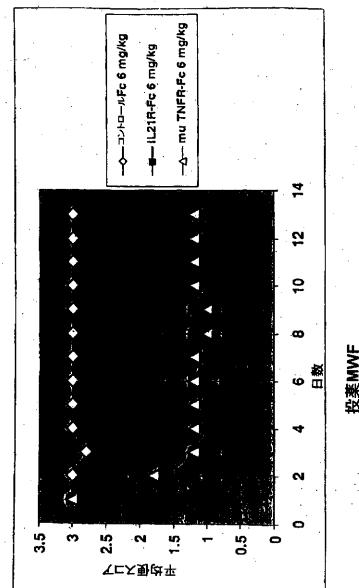
【図 19】

mIL21RFcは治療的に投与された時、炎症性腸疾患の自発モデルにおいて疾患を軽減する



【図 20】

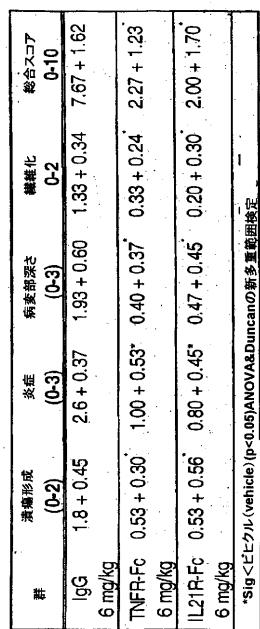
マウスIL-21R-Fcは自己免疫のHLAB27ラットモデルにおいてIBDの臨床徴候を軽減する



【図 21】

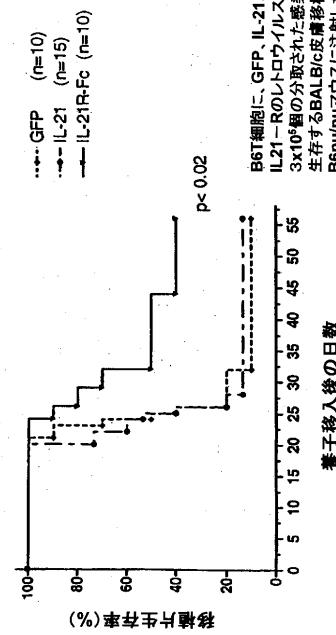
可溶性IL21Rは自己免疫のHLAB27ラットモデルにおいてIBDの臨床徴候を減じる

ラットIBDモデルにおける疾患重症度の組織学的スコア化



【図 22】

移植片拒絶T細胞のレトロウイルス形質導入  
IL-21R  $\alpha$

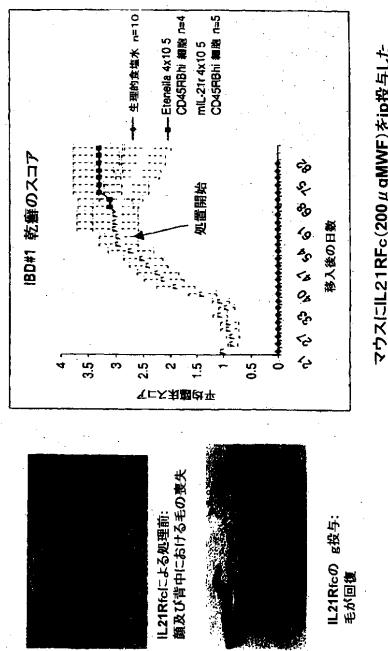


B6T細胞に、GFP、IL-21、または  
IL21-Rのレトロウイルスを感染させた。  
3x10<sup>6</sup>個の分配された腫瘍細胞を  
生存するBALB/c皮膚移植片を有する  
B6nu/nuマウスに注射した。

【図 23】

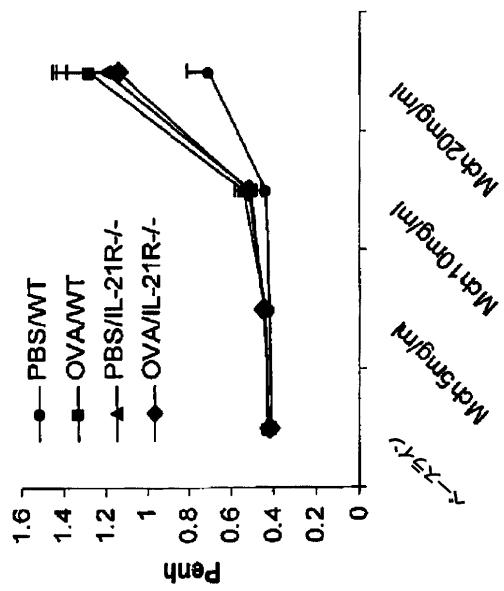
【図 2 3】

IL-21R $\alpha$ による治療的処置はCD45RBhi養子移入モデルにおける乾癬の臨床症状を逆転させる。

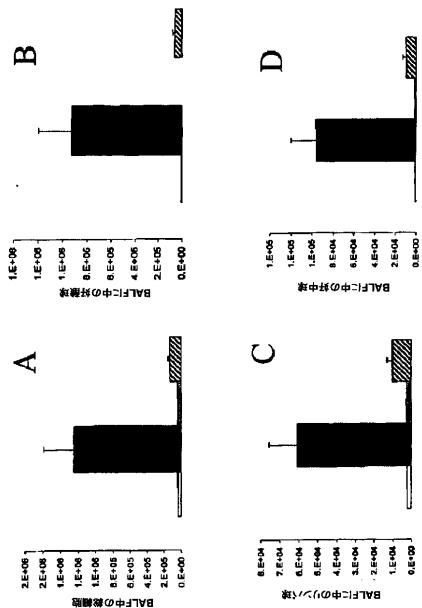


【図 2 4】

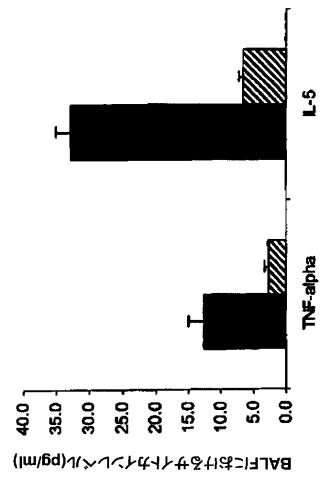
マウスにIL-21R $\alpha$ (200  $\mu$ g/MWF)をip投与した



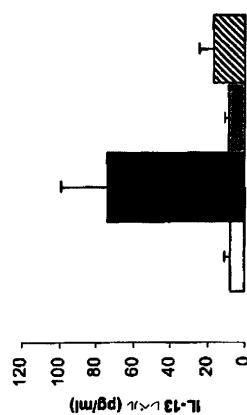
【図 2 5】



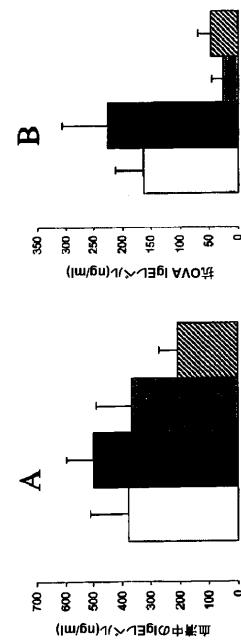
【図 2 6】



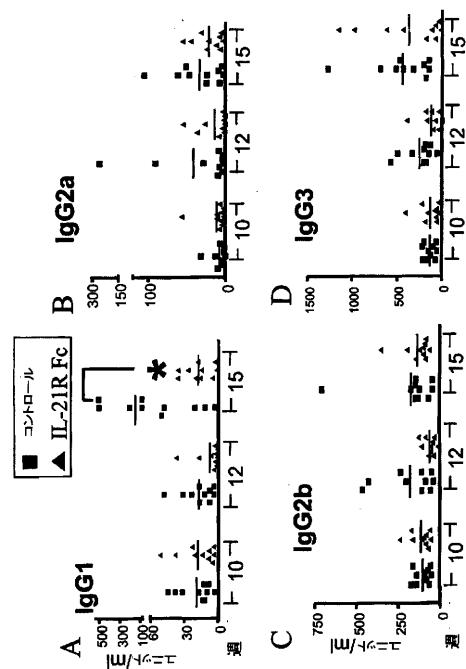
【図27】



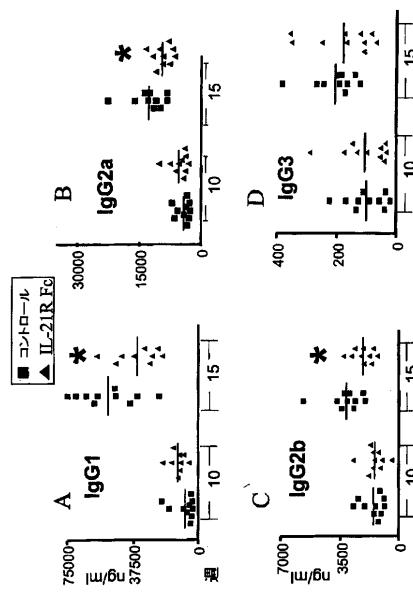
【図28】



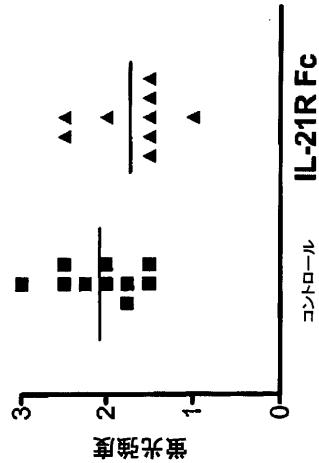
【図29】



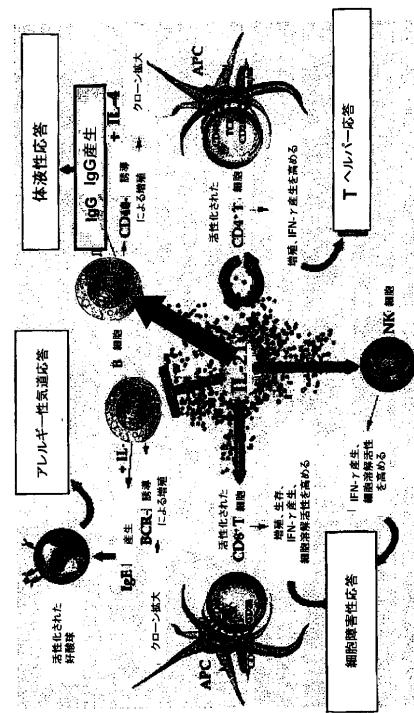
【図30】



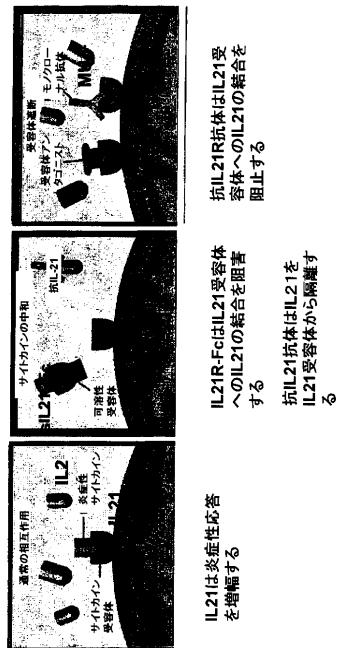
【 図 3 1 】



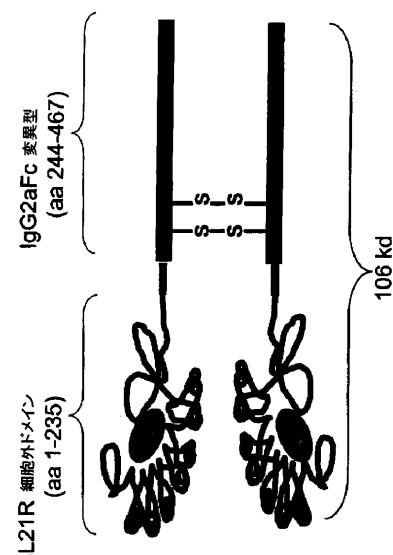
【図32】



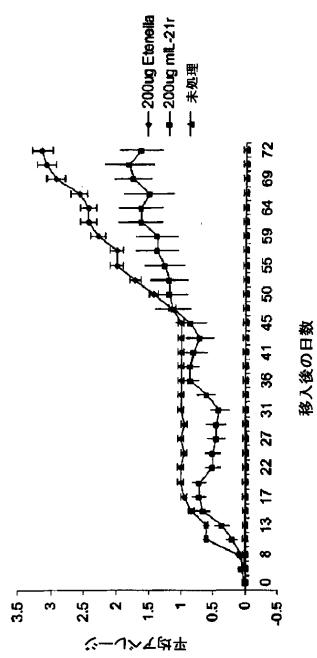
【 図 3 3 】



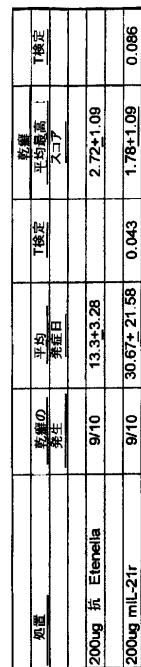
【 図 3 4 】



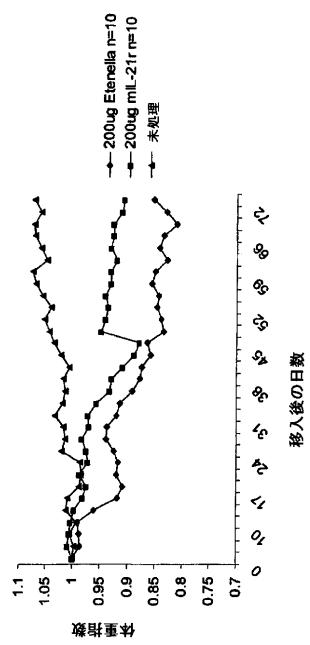
【図 3 5】



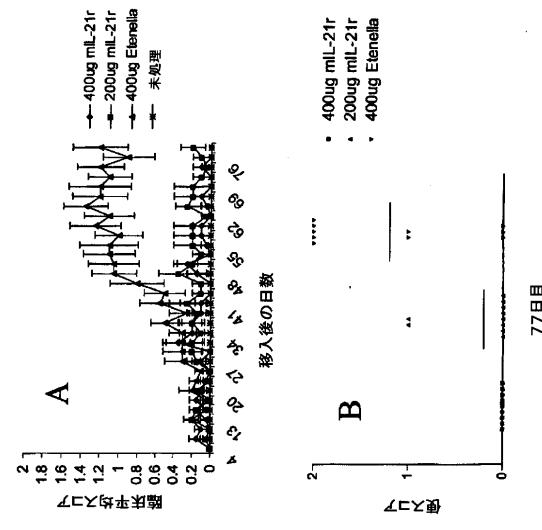
【図 3 6】



【図 3 7】



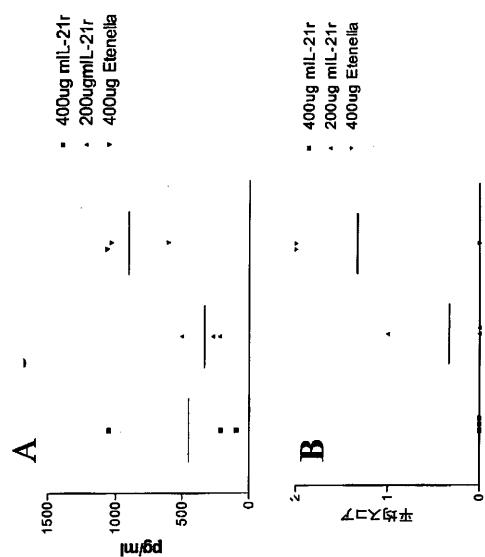
【図 3 8】



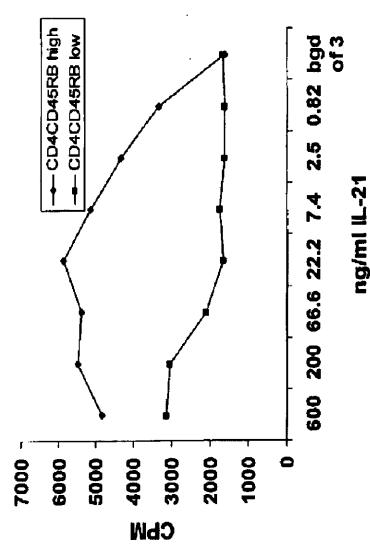
【図 3 9】

ID#4(BD) (便)	ID#	発生	平均	検定	平均最高	検定
400ug 抗 Etenella	9/10	36.22±14.66			1.778±0.441	
200ug mlL-21r	6/10	36.67±13.74	0.954	1.167±0.408	0.018	
400ug mlL-21r	8/10	45.5±17.485	0.261	1.0	7E-04	

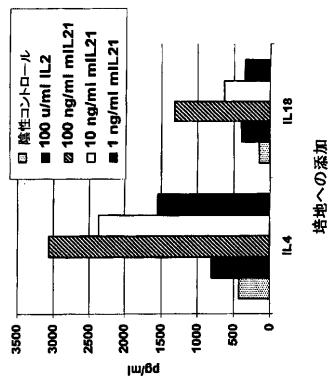
【図 4 0】



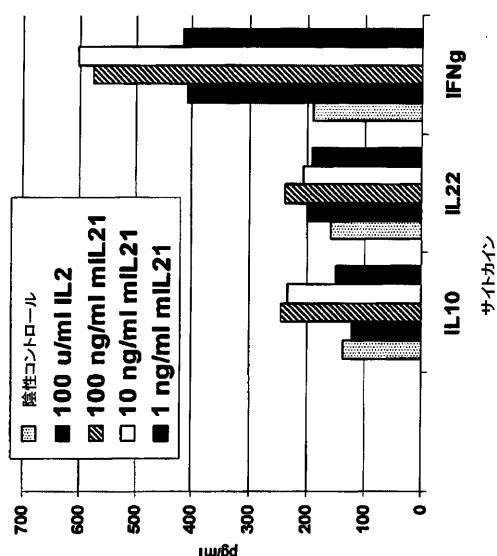
【図 4 1】



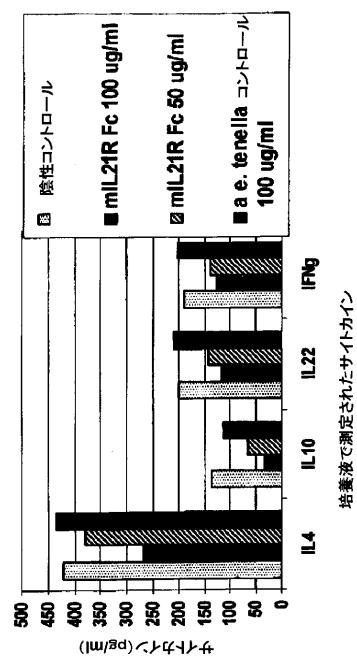
【図 4 2 A】



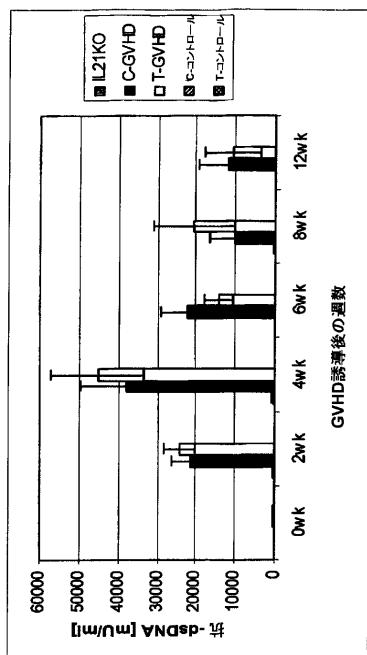
【図 4 2 B】



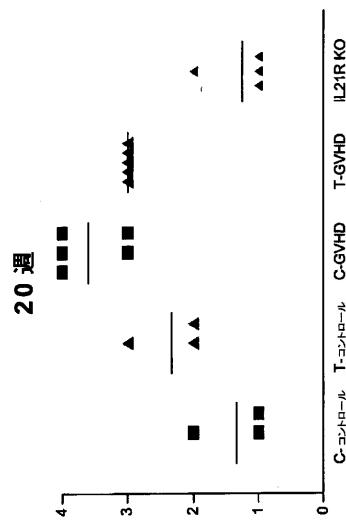
【図 4 3】



【図 4 4 A】



【図 4 4 B】



【配列表】

2008508885000001.xml

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2005/027912

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. A61K39/395 A61K38/17 C07K19/00 A61P37/00 C12N5/10  
C12N15/63

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/028630 A2 (WYETH CORP [US]; CARTER LAURA [US]; WHITTTERS MATTHEW J [US]; COLLINS M) 10 April 2003 (2003-04-10) the whole document -----	1-32
X	WO 03/087320 A2 (BETH ISRAEL HOSPITAL [US]; MOLL THOMAS [US]; STROM TERRY B [US]; ZHENG) 23 October 2003 (2003-10-23) the whole document ----- -/-	1-32

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*S\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

Date of mailing of the International search report

20 November 2006

04/12/2006

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Morawetz, Renate

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2005/027912
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE GROOT-KRUSEMAN H A ET AL: "Intragraft mRNA expression of the novel cytokine IL-21 during acute rejection after clinical heart transplantation" JOURNAL OF HEART AND LUNG TRANSPLANTATION, vol. 21, no. 1, January 2002 (2002-01), page 165, XP002408141 & TWENTY-SECOND ANNUAL MEETING AND SCIENTIFIC SESSIONS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR HEART AND LUNG; WASHINGTON, DC, USA; APRIL 10-13, 2002 ISSN: 1053-2498 the whole document	2,3,12, 13, 15-20, 29-32
X	DE GROOT-KRUSEMAN H A ET AL: "Expression of the novel cytokine IL-21 during acute rejection after clinical heart transplantation and the effect of immunosuppressive agents." JOURNAL OF INTERFERON AND CYTOKINE RESEARCH, vol. 22, no. Supplement 1, 2002, pages S-97, XP009074923 & JOINT MEETING OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR INTERFERON AND CYTOKINE RESEARCH, THE INTERNATIONAL C; TURIN, ITALY; OCTOBER 06-10, 2002 ISSN: 1079-9907 the whole document	2,3,12, 13, 15-20, 29-32
A	COLLINS M ET AL: "IL-21 AND IL-21 RECEPTOR. A NEW CYTOKINE PATHWAY MODULATES INNATE AND ADAPTIVE IMMUNITY" IMMUNOLOGIC RESEARCH, KARGER, BASEL, CH, vol. 28, no. 2, 2003, pages 131-140, XP009036147 ISSN: 0257-277X the whole document	
P,X	WO 2004/083249 A2 (WYETH CORP [US]; CAMBRIDGE ANTIBODY TECH [GB]; YOUNG DEBORAH A [US]; W) 30 September 2004 (2004-09-30) the whole document	1-32
		-/-

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2005/027912
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	OZAKI K ET AL: "Regulation of B cell differentiation and plasma cell generation by IL-21, a novel inducer of Blimp-1 and Bcl-6" JOURNAL OF IMMUNOLOGY, THE WILLIAMS AND WILKINS CO. BALTIMORE, US, vol. 173, no. 9, 1 November 2004 (2004-11-01), pages 5361-5371, XP002335928 ISSN: 0022-1767 the whole document -----	1-32
P,X	YOUNG DEBORAH A ET AL: "Neutralization of interleukin 21 reduces inflammatory cytokines and correlates with suppression of disease in mice adoptively transplanted with Cd45rbhi Cd4+ T cells." GASTROENTEROLOGY, vol. 128, no. 4, Suppl. 2, April 2005 (2005-04), pages A40-A41, XP009074980 & ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-GASTROENTEROLOGICAL-ASSOCIATION/D IGESTIVE-DISEASE-WEEK; CHICAGO, IL, USA; MAY 14 -19, 2005 ISSN: 0016-5085 the whole document -----	1-32

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2005/027912

## Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Although claims 1-20 and 29-32 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2.  Claims Nos.: because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

## Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

## Information on patent family members

International application No
PCT/US2005/027912

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 03028630	A2	10-04-2003	CA EP JP	2460916 A1 1432431 A2 2005508915 T		10-04-2003 30-06-2004 07-04-2005
WO 03087320	A2	23-10-2003	AU	2003230834 A1		27-10-2003
WO 2004083249	A2	30-09-2004	AU BR CA CN EP KR MX	2004221876 A1 PI0408315 A 2518371 A1 1777621 A 1603949 A2 20050119120 A PA05009556 A		30-09-2004 07-03-2006 30-09-2004 24-05-2006 14-12-2005 20-12-2005 16-11-2005

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 14/54	(2006.01) C 0 7 K 14/54	
C 0 7 K 16/00	(2006.01) C 0 7 K 16/00	
C 0 7 K 19/00	(2006.01) C 0 7 K 19/00	
C 1 2 P 21/02	(2006.01) C 1 2 P 21/02	C
A 6 1 K 39/395	(2006.01) A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 P 19/02	(2006.01) A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 37/08	(2006.01) A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 11/00	(2006.01) A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 17/00	(2006.01) A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 29/00	(2006.01) A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 37/06	(2006.01) A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 25/00	(2006.01) A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 11/06	(2006.01) A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 1/04	(2006.01) A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 21/00	(2006.01) A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 13/12	(2006.01) A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 11/02	(2006.01) A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 17/06	(2006.01) A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 17/04	(2006.01) A 6 1 P 11/02	
	A 6 1 P 17/06	
	A 6 1 P 17/04	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,L,S,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ヤング , デボラハ , エー .  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 7 6 , メルローズ , ネルソン ロード 3 9

(72)発明者 コリンズ , マリー  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 7 6 0 , ナティック , ラスバーン ロード 5 4

(72)発明者 ドゥヌシー - ジョアンノボウロス , キリアキ  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 7 8 , ベルモント , ダグラス ロード 6 4

(72)発明者 オーハラ , リチャード ,マイケル , ジュニア  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 7 0 , クインシー , タイラー ストリート 6 5

(72)発明者 カサイアン , マリオン , ティー .  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 2 9 , チャールズタウン , コンコード ストリート  
ナンバー 1 1 8

(72)発明者 ホワイターズ , マットヒュー , ジェー .  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 1 7 4 9 , ハドソン , ブレントン ウッド ロード 1

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA02 DA75 EA22  
EA28 FA74